

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :

A61K 48/00

A2

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/45851

(43) Internationales

Veröffentlichungsdatum:

10. August 2000 (10.08.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/00364

(22) Internationales Anmeldedatum: 4. Februar 2000 (04.02.00)

(30) Prioritätsdaten:

199 04 514.3	4. Februar 1999 (04.02.99)	DE
199 43 786.6	13. September 1999 (13.09.99)	DE
199 43 787.4	13. September 1999 (13.09.99)	DE

(71)(72) Anmelder und Erfinder: BULLERDIEK, Jörn [DE/DE];  
Weißdompfad 14, D-28355 Bremen (DE).

(74) Anwälte: GODDAR, Heinz usw.; Boehmert & Boehmert,  
Hollerallee 32, D-28209 Bremen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(54) Title: PREPARATION FOR THE PREVENTION AND/OR TREATMENT OF A TISSUE CHANGE OF MESENCHYMAL ORIGIN

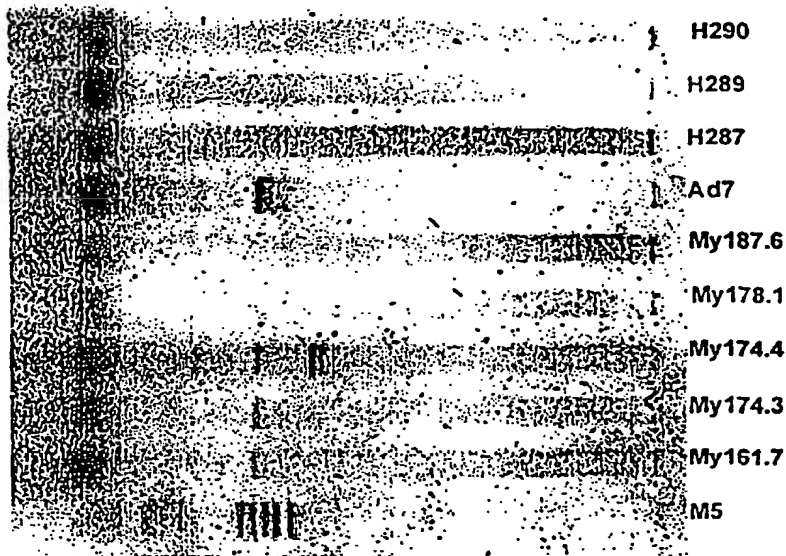
(54) Bezeichnung: MITTEL ZUR PRÄVENTION UND/ODER BEHANDLUNG EINER GEWEBEVERÄNDERUNG MESENCHYMALEN URSPRUNGS

(57) Abstract

The invention relates to a preparation for the prevention and/or treatment of a tissue change. According to the invention the tissue change relates to tissues of mesenchymal origin or tissue changes derived therefrom and the preparation contains an agent with antiviral action.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung Gewebe mesenchymalen Ursprungs oder davon abgeleitete Gewebeveränderungen umfaßt und das Mittel ein antiviral wirksames Agens umfaßt.



BEST AVAILABLE COPY

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidtschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

---

Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer Gewebeveränderung  
mesenchymalen Ursprungs

---

Die Erfindung betrifft Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung Gewebe mesenchymalen Ursprungs umfaßt, Verwendung der Mittel, Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen mesenchymalen Ursprungs und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das erfindungsgemäße Mittel gerichtet ist sowie Verwendungen des Verfahrens, Vorrichtung zur Bestimmung eines an der Pathogenese von Gewebeveränderungen mesenchymalen Ursprungs beteiligten Viren sowie Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine Gewebeveränderung mesenchymalen Ursprungs ist.

Die Behandlung von Gewebeveränderungen wie Tumoren und Karzinomen ist trotz intensiver Bemühungen der modernen Medizin noch immer vergleichsweise beschränkt auf Chemotherapie in ihren vielfältigsten Abwandlungen und chirurgische Eingriffe. Bei weitem problematischer ist die Prävention derartiger Gewebeerkrankungen. In der Regel gilt es dabei, die für die Gewebeveränderung verantwortlichen Faktoren für den individuellen Lebensbereich auszuschließen, was jedoch nicht immer möglich ist.

Ein besonderer Problemkreis ist die Prävention und Behandlung von Gewebeveränderungen mit mesenchyalem Ursprung. Bis zum heutigen Tage ist die der so verschiedenen Tumoren wie Leiomyom, Endometrium-Polyp, Endometriose, Hamartom der Lunge und der Mamma, Prostata-Adenom, Atherom und vieler mehr, zugrundeliegende Ätiologie nicht bekannt, was dazu führt, daß für diese Art der Erkrankungen nur eine symptomatische Therapie bleibt. Unter diesen Umständen ist eine Prävention ganz besonders schwierig, weiß doch der Einzelne nicht, wie er durch sein eigenes Verhalten das Risiko, an einer derartigen Gewebeveränderung zu erkranken, verringern kann.

Beispielhaft sei hier auf die Leiomyome des Uterus hingewiesen. Diese sind, obwohl sie gutartig ausgebildet sind, ein gesundheitspolitisches Problem. So haben Studien ergeben, daß in den westeuropäischen Staaten jede dritte Frau Uterusleiomyome aufweist und bspw. in den USA jeder fünfte Besuch beim Gynäkologen aufgrund von Myomen erfolgt (Morton, C.C.;

Am. J. Pathol. 1998; 153(4): 1050-20). Wenn diese Leiomyome sich symptomatisch äußern, kann dies z. B. mit erheblichen Blutungen und damit gesundheitlichen Risiken, Schmerzen und Harninkontinenz verbunden sein. Darüber hinaus können diese Leiomyome Infertilität bei den betroffenen Frauen zur Folge haben.

Trotz vielfältiger Bemühungen war die Ätiologie/Pathogenese von Uterusleiomyomen bisher unklar (Morton aaO.). Verschiedene mögliche Ursachen von Uterus-Leiomyomen werden bspw. von Cramer, S.F. et al. (Cramer S.F.; J. Reprod. Med. 1995, 40(8): 595-600) diskutiert, so bspw. Verletzung und Reparatur des Endometriums. Auch die Beteiligung von Östrogen und/oder Progesteron und Östrogen-und/oder Progesteron-Rezeptoren bei der Entstehung von Neoplasmen der glatten Muskulatur des Uterus wurde in der Literatur diskutiert, so z. B. von Tiltman A.J. (Tiltman A.J.; Curr. Opin. Obstet. Gynecol., 1997; 9(1):48-51. Aufgrund von verschiedenen Untersuchungen hat sich jedoch die Vorstellung entwickelt, daß Mutationen der Gene der HMGI(Y)-Familie daran beteiligt sind (siehe Schoenmakers E.F. et al.; Nat. Genet. 1995, 10(4):436-44), wobei nach wie vor ungeklärt ist, ob es sich bei den besagten Mutationen um primäre oder sekundäre Ereignisse handelt.

Trotz dieser Erkenntnis stehen für die Myome derzeit nur zwei Therapieansätze zur Verfügung, zum einen die operative Entfernung der Gebärmutter (Hysterektomie), so alleine in den USA pro Jahr ca. 200.000 Hysterektomien (Morton, aaO), oder die Myomenukleation, d.h. das „Herausschälen“ der Tumoren, bei Uterus-Erhaltung. Im Falle der Myomenukleation kann präoperativ eine medikamentöse Myomverkleinerung herbeigeführt werden unter Verwendung von Hormon-Antagonisten, die jedoch insoweit mit unerwünschten Nebenwirkungen verbunden sind, als daß dadurch menopausale Beschwerden ausgelöst werden.

Es besteht somit für Leiomyome, insbesondere solche des Uterus, sowie Endometriumpolypen und Endometriose ein dringender Bedarf an neuen Konzepten für Therapie und Präventionen und den hierfür geeigneten Mitteln.

Es ist somit eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Mittel zur Prävention und Behandlung von Gewebeveränderungen bereitzustellen, wobei die Gewebeveränderung Gewebe mesenchymalen Ursprungs umfaßt.



Weiterhin ist es eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren bereitzustellen, mit dem jene wesentlichen Komponenten ermittelt werden können, die zur Herstellung der erfindungsgemäßen Mittel geeignet bzw. erforderlich sind.

Schließlich ist es noch eine Aufgabe der Erfindung, eine Vorrichtung zur Bestimmung eines an der Pathogenese von Gewebeveränderungen beteiligten Agens bereitzustellen, wobei die Gewebeveränderung Gewebe mesenchymalen Ursprungs umfaßt.

Des weiteren liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung bereitzustellen, wobei die Gewebeveränderung Gewebe mesenchymalen Ursprungs umfaßt, und einen hierzu geeigneten Kit.

Die Aufgabe wird allgemein gelöst durch ein Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung Gewebe mesenchymalen Ursprungs oder davon abgeleitete Gewebeveränderungen umfaßt und das Mittel ein antiviral wirksames Agens umfaßt.

Die Aufgabe wird insbesondere in einem ersten Aspekt erfindungsgemäß gelöst durch ein Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung mindestens ein Gewebe mesenchymalen Ursprungs umfaßt und das Mittel ein anti-viral wirksames Agens umfaßt, das gegen ein Virus wirksam ist, dessen Nukleinsäure mindestens eine Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate umfaßt.

Die Aufgabe wird in einem zweiten Aspekt erfindungsgemäß gelöst durch ein Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung mindestens ein Gewebe mesenchymalen Ursprungs umfaßt und das Mittel ein anti-viral wirksames Agens umfaßt, das gegen ein Virus wirksam ist, dessen Nukleinsäure für ein Genprodukt codiert, wobei dieses Genprodukt mindestens mit einem Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate wechselwirkt.

Bei den erfindungsgemäßen Mitteln kann vorgesehen sein, daß die Bindungsstelle auf der Nukleinsäure des Virus das Struktur- und Sequenzmerkmal einer ersten AT-reichen Sequenz umfaßt.

In einer Ausführungsform kann vorgesehen sein, daß die Bindungsstelle auf der Nukleinsäure des Virus neben der ersten Sequenz noch die Struktur- und Sequenzmerkmale umfaßt, daß

- eine zweite AT-reiche Sequenz vorhanden ist, und
- die erste und zweite Sequenz in einer räumlichen Distanz zueinander angeordnet sind.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist vorgesehen, daß die räumliche Distanz so ausgewählt ist, daß die erste Sequenz und die zweite Sequenz relativ zueinander in einer Ebene auf der Nukleinsäure angeordnet sind.

Bei den erfindungsgemäßen Mitteln kann weiterhin vorgesehen sein, daß die Gene der HMGI(Y)-Familie MAG-Gene, HMGIC, HMGIY, aberrante Transkripte von Genen der HMGI(Y)-Familie und Derivate davon umfassen.

In einer Ausführungsform ist vorgesehen, daß das Gewebe mesenchymalen Ursprungs zumindest teilweise mit einem Virus infiziert ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist vorgesehen, daß das Virus ein solches ist, wie es hierin beschrieben ist, insbesondere im Zusammenhang mit den erfindungsgemäßen Mitteln, wobei das das Gewebe infizierende Virus jenes sein kann, und in bevorzugten Ausführungsformen ist, gegen das das erfindungsgemäße Mittel und/oder antivirale Mittel wirksam ist.

In einer weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, daß die Gewebeveränderung als ausschließlichen oder obligaten Bestandteil Gewebe umfaßt, wobei wenigstens einige der das Gewebe aufbauenden Zellen mit einem der hierin beschriebenen Viren infiziert sind.

Desweiteren kann vorgesehen sein, daß die Gewebeveränderung eine Proliferation mindestens einer mesenchymalen Zelle, die mit einem der hierin beschriebenen Viren infiziert ist, umfaßt.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Proliferation eine klonale Proliferation.

Bei den erfindungsgemäßen Mitteln kann vorgesehen sein, daß die Gewebeproliferation eine epitheliale Komponente umfaßt.

In einer bevorzugten Ausführungsform weist die epitheliale Komponente mindestens eine Zelle auf, die mit einem der hierin beschriebenen Viren infiziert ist.

Weiterhin kann vorgesehen sein, daß die mit einem der hierin beschriebenen Viren infizierte Zelle eine chromosomale Veränderung aufweist.

Dabei ist bevorzugt, wenn die chromosomale Veränderung mindestens ein HMGI(Y)-Gen der infizierten Zelle umfaßt.

In einer weiteren, bevorzugten Ausführungsform ist das HMGI(Y)-Gen aus der Gruppe ausgewählt, die MAG-Gene, HMGIC, HMGIY, aberrante Transkripte von Genen der HMGI(Y)-Familie und Derivate davon umfaßt.

Bei den erfindungsgemäßen Mitteln kann vorgesehen sein, daß die Gewebeveränderung ausgewählt ist aus der Gruppe, die Leiomyome, insbesondere Leiomyome des Uterus; Endometriumpolypen; Endometriose; Fibroadenome, insbesondere Fibroadenome der Mamma; Phylloides-Tumoren, insbesondere der Mamma; Hamartome, insbesondere der Mamma; Prostata-

Adenome; Lipome; aggressive Angiomyxome; Enchondrome; pleomorphe Adenomen, insbesondere der Kopfspeicheldrüsen; Kolon-Polypen, insbesondere Kolon-Adenome; Hamartome, insbesondere der Lunge; Atherome und daraus entstandene Karzinome umfaßt.

Dabei ist bei einer Ausführungsform vorgesehen, daß die entstandenen Karzinome aus der Gruppe ausgewählt sind, die Kolon-Karzinome und Prostata-Karzinome umfaßt.

In einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Mittel ist vorgesehen, daß das Virus ausgewählt ist aus der Gruppe, die DNA-Viren, und insbesondere Adenoviren und Herpesviren, umfaßt.

Bei den erfindungsgemäßen Mitteln kann vorgesehen sein, daß das Agens ausgewählt ist aus der Gruppe, die Impfstoffe; Antikörper; Mittel, die die Replikation, Transkription oder Translation viraler, insbesondere Gene von Adenoviren und/oder Herpesviren hemmen; Mittel, die mit Viren, insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren, infizierte Zellen erkennen und/oder zerstören; und Mittel, die durch ihre Effektorzellen-stimulierende Wirkung eine antivirale Wirkung erzielen, umfaßt.

In einer bevorzugten Ausführungsform umfaßt der Impfstoff einen Antikörper, der gegen ein Virus, wie es hierin beschrieben ist, oder einen Teil davon gerichtet ist.

In einer alternativen bevorzugten Ausführungsform umfaßt der Impfstoff ein Partikel eines Virus, wie es hierin beschrieben ist, oder einen Teil davon.

In einer weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Mittel ist der Antikörper ausgewählt aus der Gruppe, die monoklonale Antikörper, polyklonale Antikörper, polyvalente Antikörper, Antikörperfragmente und Derivate davon umfaßt.

Die Aufgabe wird in einem dritten Aspekt gelöst durch die Verwendung des erfindungsgemäßen Mittels zur Immunisierung gegen Viren, die mit der Pathogenese und/oder Ätiologie der Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, verbunden sind.

Die Aufgabe wird in einem vierten Aspekt gelöst durch eine Verwendung des erfindungsgemäßen Mittels zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung umfassend das Mittel nach einem der vorangehenden Ansprüche und einen pharmazeutisch akzeptablen Träger zur Prävention und/oder Behandlung der Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche oder zur Immunisierung gegen die Viren, die mit der Pathogenese und/oder Ätiologie der Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche verbunden sind.

Dabei kann in einer Ausführungsform vorgesehen sein, daß die Immunisierung eine aktive Immunisierung ist.

Die Aufgabe wird in einem fünften Aspekt gelöst durch ein Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, geeigneter Viren und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das erfindungsgemäße Mittel gerichtet ist, welches die Schritte umfaßt:

- a) Transfektion einer Zellkultur mit normalem Karyotyp, die abgeleitet ist von einem Gewebe, das die Gewebeveränderung nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt, mit einem Expressionsvektor für ein Gen der HMGI(Y)-Familie oder dessen Derivat,
- b) Vergleich des RNA-Musters der transfizierten Zellen mit demjenigen von Kontrollkulturen, und

- c) Überprüfen von in den transfizierten Kulturen gegenüber Kontrollkulturen exprimierten oder verstärkt exprimierten RNA(s) durch Sequenzhomologie auf das Vorhandensein viraler Elemente.

Die Aufgabe wird in einem sechsten Aspekt gelöst durch ein Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, geeigneter Viren und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das erfindungsgemäße Mittel gerichtet ist, welches die Durchführung eines PCR-Tests umfaßt, wobei die für die PCR verwendeten Primer(paare) der Sequenz viraler Nukleinsäure entsprechen.

Die Aufgabe wird in einem siebten Aspekt gelöst durch ein Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, geeigneter Viren und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das erfindungsgemäße Mittel gerichtet ist, welches die Schritte umfaßt:

- a) Anlegen einer cDNA-Bibliothek von einem Gewebe, das die Gewebeveränderung nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt, das eine Aktivierung eines Gens der HGMI(Y)-Familie oder eines Derivates aufweist oder aufweisen kann, und
- b) Screenen der cDNA-Bibliothek mit einer virusspezifischen Sonde oder
- c) Analyse der cDNA-Klone auf virale Sequenzen oder
- d) Vergleich mit einer cDNA-Bibliothek aus normalem Vergleichsgewebe.

In einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren kann vorgesehen sein, daß das Gen der HMGI(Y)-Familie ausgewählt ist aus der Gruppe, die HMGIC, HMGIY, MAG, aberante Transkripte der Gene der HMGI(Y)-Familie und Derivate davon umfaßt.

In einer weiteren Ausführungsform kann das Virus, das virale Element oder die virusspezifische Sonde aus der Gruppe von Viren ausgewählt ist, die Viren umfaßt, wie sie hierin beschrieben sind, d. h. solche Viren, deren Nukleinsäure mindestens eine Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate umfaßt oder solche Viren, deren Nukleinsäure für ein Genprodukt codiert, wobei dieses Genprodukt mindestens mit einem Genprodukt codiert, wobei dieses Genprodukt mindestens mit einem Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate wechselwirkt. Zu den vorstehend beschriebenen Viren gehören auch diejenigen, die zu der Gruppe der DNA-Viren gehören, insbesondere Adenoviren, Herpesviren und Papovaviren, die zumindest eines der beiden vorstehend genannten Merkmale aufweisen.

Die Aufgabe wird in einem achten Aspekt gelöst durch die Verwendung eines der erfindungsgemäßen Verfahren zum Ermitteln von Viren, gegen die zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, immunisiert werden kann.

Schließlich wird die Aufgabe in einem neunten Aspekt gelöst durch eine Vorrichtung zur Bestimmung eines an der Pathogenese von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, beteiligten Virus, welche ein Genprodukt von Genen der HGMI(Y)-Familie oder einen Teil davon oder dessen Derivate umfaßt, das/der an einen Träger gebunden ist.

In einer Ausführungsform ist dabei vorgesehen, daß die virale Nukleinsäure neben der ersten Sequenz noch die Struktur- und Sequenzmerkmale umfaßt, daß

- eine zweite AT-reiche Sequenz vorhanden ist und
- die erste Sequenz und zweite Sequenz in einer räumlichen Distanz zueinander angeordnet sind.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist vorgesehen, daß die räumliche Distanz so ausgewählt ist, daß die erste Sequenz und die zweite Sequenz relativ zueinander in einer Ebene auf der Nukleinsäure angeordnet sind.

Die Aufgabe wird in einem zehnten Aspekt gelöst durch ein Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine solche Gewebeveränderung umfaßt, wie hierin beschrieben, wobei eine Körperflüssigkeit von einem eine derartige Gewebeveränderung möglicherweise aufweisenden Patienten auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen Viren, wie hierin beschrieben, untersucht wird.

Die Aufgabe wird in einem elften Aspekt gelöst durch ein Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine solche Gewebeveränderung umfaßt, wie hierin beschrieben, wobei eine Körperflüssigkeit von einem eine derartige Gewebeveränderung möglicherweise aufweisenden Patienten auf das Vorhandensein von Antigenen von Viren, wie hierin beschrieben, untersucht wird.

Desweiteren wird die Aufgabe in einem zwölften Aspekt gelöst durch ein Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine solche Gewebeveränderung, wie hierin beschrieben, umfaßt, wobei eine Gewebeprobe mit einem Mittel umgesetzt wird, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die Antikörper, die mit Viren, wie hierin beschrieben, besonders DNA-Viren und ganz besonders Adenoviren und/oder Herpesviren oder Teilen davon reagieren; Antigene, die von Viren, wie hierin beschrieben, besonders DNA-Viren und ganz besonders Adenoviren und/oder Herpesviren oder Teilen davon stammen, und Nukleinsäure, die mit Nukleinsäure von Viren, wie hierin beschrieben, besonders DNA-Viren und ganz besonders Adenoviren und/oder Herpesviren wechselwirkt, umfaßt, im Falle der Anwesenheit von Viren, wie hierin beschrieben, besonders DNA-Viren und ganz besonders Adenoviren und/oder Herpesviren sich ein Komplex aus dem Mittel und dem Virus bildet und der Komplex nachgewiesen wird.

Die Aspekte eins bis zwölf werden hierin im folgenden auch als „Hauptaspekt I“ bezeichnet.



Erfindungsgemäß wird die Aufgabe in einem dreizehnten Aspekt gelöst durch ein Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung Gewebe mesenchymalen Ursprungs oder davon abgeleitete Gewebeveränderungen umfaßt und das Mittel ein antiviral wirksames Agens umfaßt, wobei das antivirale Mittel wirksam ist gegen ein Virus aus der Gruppe der DNA-Viren, und insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren.

In einem vierzehnten Aspekt wird die Aufgabe gelöst durch ein Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung Gewebe mesenchymalen Ursprungs oder davon abgeleitete Gewebeveränderungen umfaßt und das Gewebe mesenchymalen Ursprungs zumindest teilweise mit einem Virus aus der Gruppe der DNA-Viren, und insbesondere mit Adenovirus und/oder Herpesvirus infiziert ist. Dieser Aspekt kann aber auch eine Ausführungsform des dreizehnten Aspektes sein, da es, wie auch im Zusammenhang mit dem erfindungsgemäßen Mittel, bei dem die Viren, gegen die das virale Mittel wirkt und/oder die das mesenchymale Gewebe infiziert haben, solche sind, deren Nukleinsäure mindestens eine Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie umfaßt oder deren Nukleinsäure für ein Genprodukt codiert, das mit mindestens einem Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie wechselwirkt, möglich ist, daß das antivirale Mittel gegen diese Viren wirksam ist und/oder diese Viren das mesenchymale Gewebe infiziert haben. Mit anderen Worten, unter dem Hauptaspekt II ist vorgesehen, daß das Virus ein solches ist, wie es hierin beschrieben ist, insbesondere ein DNA-Virus, und daß dieses Virus dasjenige ist, das das mesenchymale Gewebe infiziert und/oder gegen das das erfindungsgemäße Mittel und/oder antivirale Agens wirksam ist.

Bei dem erfindungsgemäßen Mittel kann das Agens ausgewählt sein aus der Gruppe, die Impfstoffe; Antikörper; Mittel, die die Replikation, Transkription oder Translation viraler Gene, insbesondere Gene von Adenoviren und/oder Herpesviren, hemmen; Mittel, die mit Viren, insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren, infizierte Zellen erkennen und/oder zerstören; und Mittel, die durch ihre effektorzellenstimulierende Wirkung eine antivirale Wirkung erzielen, umfaßt.

Bei einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mittels ist dabei vorgesehen, daß die Gewebeveränderung als ausschließlichen oder obligaten Bestandteil Gewebe umfaßt, wobei wenigstens einige der das Gewebe aufbauenden Zellen mit Viren, insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren infiziert sind.

In einer weiteren Ausführungsform umfaßt die Gewebeproliferation eine Proliferation mindestens einer mesenchymalen Zelle, die mit Viren, insbesondere Adenovirus und/oder Herpesvirus infiziert ist.

Dabei kann insbesondere vorgesehen sein, daß die Proliferation eine klonale Proliferation ist.

In einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mittels ist vorgesehen, daß die Gewebeproliferation eine epitheliale Komponente umfaßt.

Dabei ist insbesondere vorgesehen, daß die epitheliale Komponente mindestens eine Zelle aufweist, die mit einem Virus aus der Gruppe der DNA-Viren, insbesondere mit Adenovirus und/oder Herpesvirus, infiziert ist.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist vorgesehen, daß die mit einem Virus aus der Gruppe der DNA-Viren, insbesondere mit Adenovirus und/oder Herpesvirus infizierte Zelle eine chromosomale Veränderung aufweist.

Dabei ist besonders bevorzugt, wenn die chromosomale Veränderung mindestens ein HMGI(Y)-Gen der infizierten Zelle umfaßt.

Bei dem erfindungsgemäßen Mittel ist in einer Ausführungsform vorgesehen, daß die Gewebeveränderung ausgewählt ist aus der Gruppe, die Leiomyome, insbesondere Leiomyome des Uterus; Endometriumpolypen; Endometriose; Fibroadenome, insbesondere Fibroadenome der Mamma; Phyllodes-Tumoren, insbesondere der Mamma; Hamartome, insbesondere der Mamma; Prostata-Adenome; Lipome; aggressive Angiomyxome; Enchondrome; pleomorphe

Adenome, insbesondere der Kopfspeicheldrüsen; Kolon-Polypen, insbesondere Kolon-Adenome; Hamartome, insbesondere der Lunge; Atherome und daraus entstandene Karzinome umfaßt.

Dabei ist in einer besonders bevorzugten Ausführungsform vorgesehen, daß die entstandenen Karzinome aus der Gruppe ausgewählt sind, die Kolon-Karzinome und Prostata-Karzinome umfaßt.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform ist der Impfstoff gegen einen Virus aus der Gruppe der DNA-Viren, insbesondere gegen Adenovirus und/oder Herpesvirus, gerichtet.

Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfaßt der Impfstoff ein Viruspartikel oder Teile davon.

In einer alternativen bevorzugten Ausführungsform umfaßt der Impfstoff einen Antikörper, der gegen das Virus oder einen Teil davon gerichtet ist.

In einer weiteren Ausführungsform ist der Impfstoff gegen ein Virus gerichtet, dessen Nukleinsäure mindestens eine Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familien oder deren Derivate umfaßt.

In einer alternativen weiteren Ausführungsform ist der Impfstoff gegen ein Virus gerichtet, dessen Nukleinsäure für mindestens ein Genprodukt codiert, wobei dieses Genprodukt mindestens mit einem Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivaten wechselwirkt.

In einer bevorzugten Ausführungsform umfaßt die Bindungsstelle auf der Nukleinsäure des Virus das Struktur- und Sequenzmerkmal einer ersten AT-reichen Sequenz.

Dabei kann vorgesehen sein, daß die Bindungsstelle auf der Nukleinsäure des Virus neben der ersten Sequenz noch die Struktur- und Sequenzmerkmale umfaßt, daß

- eine zweite AT-reiche Sequenz vorhanden ist, und
- die erste und zweite Sequenz in einer räumlichen Distanz zueinander angeordnet sind.

Dabei kann weiterhin vorgesehen sein, daß die räumliche Distanz so ausgewählt ist, daß die erste Sequenz und die zweite Sequenz relativ zueinander in einer Ebene auf der Nukleinsäure angeordnet sind.

Bei dem erfindungsgemäßen Mittel kann vorgesehen sein, daß die Gene der HMGI(Y)-Familie MAG-Gene, HMGIC, HMGIY, aberrante Transkripte von Genen der HMGI(Y)-Familie und Derivate davon umfassen.

In einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mittels ist vorgesehen, daß der Antikörper ausgewählt ist aus der Gruppe, die monoklonale Antikörper, polyklonale Antikörper, polyvalente Antikörper, Antikörperfragmente und Derivate davon umfaßt.

Weiterhin wird die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe in einem fünfzehnten Aspekt gelöst durch die Verwendung des erfindungsgemäßen Mittels zur Immunisierung gegen Viren, die mit der Pathogenese und/oder Ätiologie der Gewebeveränderungen, wie sie hierin beschrieben sind, verbunden sind.

Die Aufgabe wird in einem sechzehnten Aspekt gelöst durch die Verwendung des erfindungsgemäßen Mittels zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung umfassend das erfindungsgemäße Mittel und einen pharmazeutisch akzeptablen Träger zur Prävention und/oder Behandlung der Gewebeveränderungen, wie sie hierin beschrieben sind, oder zur

Immunisierung gegen die Viren, die mit der Pathogenese und/oder Ätiologie der Gewebeveränderungen, wie sie hierin beschrieben sind, verbunden sind.

Dabei kann vorgesehen sein, daß die Immunisierung eine aktive Immunisierung ist.

Weiterhin wird die Aufgabe in einem siebzehnten Aspekt gelöst durch ein Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines - erfindungsgemäßen - Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, geeigneter Viren und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das Mittel nach einem der vorangehenden Ansprüche gerichtet ist, welches die Schritte umfaßt:

- a) Transfektion einer Zellkultur mit normalem Karyotyp, die abgeleitet ist von einem Gewebe, das die Gewebeveränderung nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt, mit einem Expressionsvektor für ein Gen der HMGI(Y)-Familie oder dessen Derivat,
- b) Vergleich des RNA-Musters der transfizierten Zellen mit demjenigen von Kontrollkulturen, und
- c) Überprüfen von in den transfizierten Kulturen gegenüber Kontrollkulturen exprimierten oder verstärkt exprimierten RNA(s) durch Sequenzhomologie auf das Vorhandensein viraler Elemente.

Weiterhin wird die Aufgabe in einem achtzehnten Aspekt gelöst durch ein Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines - erfindungsgemäßen - Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, geeigneter Viren und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das Mittel nach einem der vorangehenden Ansprüche gerichtet ist, welches die Durchführung eines PCR-Tests umfaßt, wobei die für die PCR verwendeten Primer(paare) der Sequenz viraler Nukleinsäure entsprechen.

Desweiteren wird die Aufgabe in einem neunzehnten Aspekt gelöst durch ein Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines – erfindungsgemäßen - Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, geeigneter Viren und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das Mittel nach einem der vorangehenden Ansprüche gerichtet ist, welches die Schritte umfaßt:

- a) Anlegen einer cDNA-Bibliothek von einem Gewebe, das die Gewebeveränderung nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt, das eine Aktivierung eines Gens der HGM(Y)-Familie oder eines Derivates aufweist oder aufweisen kann, und
- b) Screenen der cDNA-Bibliothek mit einer virusspezifischen Sonde oder
- c) Analyse der cDNA-Klone auf virale Sequenzen oder
- d) Vergleich mit einer cDNA-Bibliothek aus normalem Vergleichsgewebe.

Bei einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren ist vorgesehen, daß das Gen der HMG(Y)-Familie ausgewählt ist aus der Gruppe, die HMGIC, HMGIY, MAG, aberrante Transkripte der Gene der HMG(Y)-Familie und Derivate davon umfaßt.

Weiterhin ist in einer Ausführungsform vorgesehen, daß das Virus, das virale Element oder die virusspezifische Sonde aus der Gruppe von Viren ausgewählt ist, die DNA-Viren, und insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren umfaßt.

Schließlich wird die Aufgabe in einem zwanzigsten Aspekt gelöst durch eine Verwendung eines erfindungsgemäßen Verfahrens zum Ermitteln von Viren, gegen die zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, immunisiert werden kann.

Die Aufgabe wird in einem einundzwanzigsten Aspekt gelöst durch eine Vorrichtung zur Bestimmung eines an der Pathogenese von Gewebeveränderungen, wie hierin beschrieben, beteiligten Virus, welche ein Genprodukt von Genen der HGMI(Y)-Familie oder einen Teil davon oder dessen Derivate umfaßt, das/der an einen Träger gebunden ist.

In einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist vorgesehen, daß die virale Nukleinsäure neben der ersten Sequenz noch die Struktur- und Sequenzmerkmale umfaßt, daß

- eine zweite AT-reiche Sequenz vorhanden ist und
- die erste Sequenz und zweite Sequenz in einer räumlichen Distanz zueinander angeordnet sind.

In einer weiteren Ausführungsform ist vorgesehen, daß die räumliche Distanz so ausgewählt ist, daß die erste Sequenz und die zweite Sequenz relativ zueinander in einer Ebene auf der Nukleinsäure angeordnet sind.

Die Aufgabe wird in einem zweiundzwanzigsten Aspekt gelöst durch ein Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine solche Gewebeveränderung umfaßt, wie hierin beschrieben, wobei eine Körperflüssigkeit auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen DNA-Viren, und insbesondere gegen Adenoviren und/oder Herpesviren, untersucht wird.

Die Aufgabe wird desweiteren in einem dreiundzwanzigsten Aspekt gelöst durch ein Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine solche Gewebeveränderung umfaßt, wie hierin beschrieben, wobei eine Körperflüssigkeit auf das Vorhandensein von Antigenen von DNA-Viren und insbesondere von Adenoviren und/oder Herpesviren untersucht wird.

Schließlich wird die Aufgabe in einem vierundzwanzigsten Aspekt gelöst durch ein Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine solche Gewebeveränderung umfaßt, wie hierin beschrieben, wobei eine Gewebeprobe mit einem Mittel umgesetzt wird, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die Antikörper, die mit DNA-Viren und insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren oder Teilen davon reagieren; Antigene, die von DNA-Viren und insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren oder Teilen davon stammen, und Nukleinsäure, die mit Nukleinsäure von DNA-Viren und insbesondere von Adenoviren und/oder Herpesviren wechselwirkt, umfaßt, im Falle der Anwesenheit von DNA-Viren und insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren sich ein Komplex aus dem Mittel und dem DNA-Virus und insbesondere Adenovirus und/oder Herpesvirus bildet und der Komplex nachgewiesen wird.

Die Aspekte dreizehn bis vierundzwanzig werden hierin im folgenden auch als „Hauptaspekt II“ bezeichnet.

Bevor im folgenden die Erfindung näher erläutert wird, sollen die hierin verwendeten Begrifflichkeiten in Ergänzung zu dem allgemeinen Verständnis des Fachmannes auf dem Gebiet definiert werden.

Unter Leiomyomen sollen hierin insbesondere benigne Tumoren der glatten Muskulatur verstanden werden (Definition nach Baltzer, J. et al.; Gynäkologie – Ein kurzgefaßtes Lehrbuch, 5. Aufl., 1994, Thieme Verlag).

Unter Endometriumpolypen sollen hierin insbesondere Hyperplasien und polypöse Wachstumsformen des Endometriums mit stromaler und Drüsen-(epithelialer) oder ausschließlich stromaler Komponente verstanden werden.

Unter Endometriose soll hierin insbesondere Endometriumherde, die sich an anderer Stelle als im Cavum uteri (Definition nach Baltzer aaO.) befinden, verstanden werden.

Unter Myomen sollen hierin insbesondere Leiomyome verstanden werden (Definition nach Baltzer aaO.).



Der Erfindung liegt ganz allgemein die überraschende Erkenntnis zugrunde, daß Gewebeveränderungen, die ein Gewebe umfassen, das mesenchymalen Ursprungs ist, ein gemeinsamer Pathogenitätsmechanismus zugrunde liegt. Dieser Pathogenitätsmechanismus ist insbesondere betreffend Hauptaspekt I der Erfindung, mit der Anwesenheit eines Virus in dem Gewebe mesenchymalen Ursprungs verbunden, wobei das Virus ein solches ist, dessen Nukleinsäure mindestens eine Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate umfaßt oder das Virus ein solches ist, dessen Nukleinsäure für ein Genprodukt codiert, wobei dieses Genprodukt mindestens mit einem Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate wechselwirkt. Diese Viren werden hierin auch als „HMGI-Viren“ bezeichnet oder Bezug genommen durch den Begriff „wie hierin beschrieben“. Mit anderen Worten, diese Art von Viren sind ein Faktor bei der Auslösung von Gewebeveränderungen, die Gewebe umfassen, das mesenchymalen Ursprungs ist.

Der Erfindung liegt, insbesondere betreffend Hauptaspekt II, die überraschende Erkenntnis zugrunde, daß Gewebeveränderungen, die ein Gewebe umfassen, das mesenchymalen Ursprungs ist, ein gemeinsamer Pathogenitätsmechanismus zugrunde liegt, wobei dieser mit der Anwesenheit von DNA-Viren in dem Gewebe mesenchymalen Ursprungs verbunden ist. Mit anderen Worten, DNA-Viren sind ein Faktor bei der Auslösung von Gewebeveränderungen, die Gewebe umfassen, das mesenchymalen Ursprungs ist.

Im Zusammenhang damit scheinen innerhalb der Gruppe der DNA-Viren insbesondere die Adenoviren hierfür von besonderer Bedeutung zu sein. Eine weitere Gruppe von DNA-Viren, die für die hierin beschriebenen Gewebeveränderungen, die ein Gewebe umfassen, das mesenchymalen Ursprungs ist, von besonderer Bedeutung sind, sind Viren der Herpesgruppe, die im folgenden und hierin vereinfacht als Herpesviren bezeichnet werden. Desweiteren gehören zur Gruppe der DNA-Viren, die für die hierin beschriebenen Gewebeveränderungen von Bedeutung sind, die Papova-Viren.

Der vorliegenden Erfindung liegt insbesondere betreffend Hauptaspekt II weiterhin die Erkenntnis zugrunde, daß für die hierin beschriebenen Gewebeveränderungen verschiedene Viren, insbesondere DNA-Viren aber auch HMGI-Viren, synergistisch wirken können.

Infolge der vorstehend beschriebenen Erkenntnisse konnte der Erfinder die erfindungsgemäßen Mittel schaffen. Sind Viren an den Gewebeveränderungen in der einen oder anderen

Form kausal beteiligt, kann diese Kausalität und damit die Entstehung, Aufrechterhaltung und/oder Weiterentwicklung der Gewebeveränderungen durch antivirale Mittel beeinflusst werden. Ein antivirales Mittel kann damit, vereinfacht ausgedrückt, gegen Gewebeveränderungen eingesetzt werden, die von einem Virus, wie es hierin beschrieben ist, d.h. HMGI-Viren und/oder DNA-Viren, infiziert bzw. verursacht werden. Gleichzeitig ergibt sich daraus, daß bei derartigen Gewebeveränderungen besonders jene antiviralen Mittel verwendet werden können, die wirksam sind gegen die hierin beschriebenen Viren, d.h. die hierin als HMGI-Viren und DNA-Viren bezeichneten Viren, insbesondere deshalb und soweit sie an der Gewebeveränderung direkt oder indirekt kausal beteiligt sind.

Die insbesondere in den Ansprüchen verwendete Begrifflichkeit „ein Virus nach einem der vorangehenden Ansprüche“ greift somit auf die Beschreibung der Viren, wie sie in einem der Ansprüche gegeben wird, zurück, ohne daß die Viren jedoch u. U. als solches beansprucht sind, um nicht nochmals deren Merkmale zu wiederholen. Im allgemeinen wird durch diese verkürzte Schreibweise Bezug genommen auf HMGI-Viren und/oder DNA-Viren, wie sie hierin beschrieben sind.

Die hierin beschriebenen Gewebeveränderungen können Tumore und/oder Karzinome umfassen. Hinsichtlich des histologischen Aufbaus der besagten Gewebeveränderungen kann festgestellt werden, daß diese vollständig aus solchem Gewebe bestehen können, das sich unter dem Einfluß der HMGI-Viren und/oder DNA-Viren (insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren), die, sofern sich aus dem jeweiligen Kontext nichts anderes ergibt, hierin auch als „die besagten Viren“ insgesamt bezeichnet werden, verändert hat, oder aber ein Teil des die Gewebeveränderung aufweisenden Gewebes aus solchem Gewebe besteht, das sich unter dem Einfluß der besagten Viren verändert hat, mithin dieser Teil des Gewebes lediglich ein, aber ein obligater Bestandteil der Gewebeveränderung oder Tumors ist.

Die Gewebeveränderung kann des weiteren eine solche sein, bei der die Veränderung auf eine Proliferation von mit den besagten Viren infizierten mesenchymalen Zellen zurückzuführen ist. Gleichzeitig kann die Gewebeveränderung auch eine epitheliale Komponente aufweisen. Unter epithelialer Komponente soll hierin ein Teil der Gewebeveränderung (bspw. des Tumors oder Karzinoms) verstanden werden, der hinsichtlich seines histologischen Ursprungs dem Epithel zugewiesen werden kann. Diese histologische Zuweisung erfolgt dabei auf der Basis allgemein akzeptierter Kriterien der Histopathologie.

Bei den Gewebeveränderungen kann dabei auch die Situation vorliegen, daß die Proliferation eine klonale Proliferation ist, d.h. die Proliferation auf ein einzelnes Infektionsereignis zurückgeht, mithin eine einzelne Zellen infolge der Infektion mit den besagten Viren transformiert wird. Infolge der Transformation dieser einzelnen Zelle verändert sich das Verhalten der Zelle, insbesondere ihr Differenzierungszustand und/oder ihr Wachstumsverhalten, was zu der Gewebeveränderung führt. Geht die Gewebeveränderung auf eine einzelne, mit den besagten Viren infizierte Zellen zurück, spricht man von einem monoklonalen Tumor, geht die Gewebeveränderung auf mehrere aber wenige mit den besagten Viren infizierte Zellen zurück, spricht man von einem oligoklonalen Tumor. Beide Klonalitäten gehen auf den hierin offenbarten durch die besagten Viren vermittelten Pathogenitätsmechanismus zurück.

Mit der Infektion der mesenchymalen Zellkomponente von Gewebe durch die besagten Viren, das schließlich die Gewebeveränderung zeigt bzw. diese ausbildet, als universellen Pathogenitätsmechanismus sind eine Reihe von verschiedenen Infektionsszenarien möglich. So kann, z. B., in einem Fall die Primärinfektion in einem Gewebe mesenchymalen Ursprungs erfolgen und auf dieses beschränkt sein. Dabei kann es zu weiteren Gewebeveränderungen kommen, wobei eine Epithelproliferation auftritt, die mittelbar oder unmittelbar Folge der Virusinfektion der mesenchymalen Komponente ist. Beispiele hierfür stellen Hamartome und Endometriose dar. Es ist jedoch auch möglich, daß sich die Primärinfektion auf andere Gewebeteile ausweitet. Dabei kann bspw. auch epitheliales Gewebe infiziert werden, wobei es sich dabei um eine Sekundärinfektion handelt und dieses sekundär infizierte epitheliale Gewebe ebenfalls proliferieren kann. Es ist des weiteren denkbar, daß epitheliales Gewebe zuerst, d.h. primär, durch die besagten Viren infiziert wird und sich ausgehend hiervon eine Sekundärinfektion des mesenchymalen Gewebes oder Gewebeanteils der – späteren – Gewebeveränderung ergibt, die dann zu einer Proliferation des mesenchymalen Gewebes führen kann. Ein Beispiel für das zuletzt beschriebene Szenario stellt das Kolonadenom dar.

Die hierin beschriebenen Viren können während oder nach der Infektion in der Zelle in irgendeiner Form vorliegen. So kann das Virus in den infizierten Zellen episomal oder in das Wirtsgenom integriert vorliegen. Es kann einen lytischen Zyklus durchlaufen, in die Umgebung freigesetzt werden und weitere Zellen infizieren, wie auch oben ausgeführt. Das Virus kann auch in epithelialen Zellen entweder episomal oder in das Genom integriert vorliegen.

Unter Adenovirus soll hierin ganz allgemein ein jegliches Mitglied der Gruppe der Adenoviren verstanden werden, wie sie bspw. beschrieben ist in Fields Virology, 3rd Edition, Raven Publisher, Philadelphia, 1996 und die dort beschriebenen Eigenschaften aufweist. Gleiches gilt für die Viren aus der Gruppe der Herpesviren, d. h. unter Herpesvirus soll hierin ganz allgemein ein jegliches Virus aus der Gruppe der Herpesviren verstanden werden, z. B. auch das Cytomegalovirus, wie in Fields Virology, a.a.O., beschrieben und das die dort beschriebenen Eigenschaften aufweist. Des weiteren erstreckt sich der Begriff der Adenoviren und/oder Herpesviren hierin insbesondere im Zusammenhang mit dem gegen Adenoviren und/oder Herpesviren gerichteten Impfstoff, auch auf solche Viren, die wesentliche Elemente und/oder Eigenschaften dieser Viren aufweisen. Hierzu zählen bspw. auch gentechnologisch veränderte Viren.

Zur Gruppe der DNA-Viren gehören auch die Polyoma-Viren, die wiederum zur Familie der Papovaviridae, zu denen auch die Papilloma-Viren und Simian Vacuolating Virus 40 (SV 40) gehören. Die Familie zeichnet sich durch extreme Hitzestabilität aus. Papovaviridae sind hüllenlose kubische DNA-Viren mit einem Durchmesser von 45 bis 55 nm, umfassend 72 Kapomere sowie eine zyklische doppelsträngige DNA. Das hierin insbesondere zu bzw. im Zusammenhang mit Adenoviren und Herpesviren Gesagte gilt sinngemäß auch für diese Gruppe der DNA-Viren.

Infolge dieses insbesondere beim Menschen hinsichtlich Gewebeveränderungen, die Gewebe, das mesenchymalen Ursprungs ist, umfassen, nach derzeitiger Auffassung des Erfinders, universellen Pathogenitätsmechanismus, der auf der Beteiligung der besagten, d. h. hierin beschriebenen Viren beruht, besteht damit die Möglichkeit, Mittel bzw. Therapiekonzepte zur Behandlung von all jenen Gewebeveränderungen bereitzustellen, die Gewebe mesenchymalen Ursprung umfassen. Gleiches gilt für die Diagnose derartiger Gewebeveränderungen.

Darüberhinaus kann in Kenntnis dieses Pathogenitätsmechanismus nun auch eine Prävention unter Verwendung der erfindungsgemäßen Mittel betrieben werden. Die Umsetzung dieser fundamentalen Erkenntnis besteht darin, antivirale Mittel zur Behandlung derartiger Gewebeveränderungen zu verwenden. Diese Mittel können insoweit auch bereits bekannte antiviral wirksame Mittel umfassen, solange sie geeignet sind, die Aktivität der hierin beschriebenen Viren, d.h. HMGI-Viren und/oder DNA-Viren, zu beeinflussen. Als möglichen Angriffspunkt für eine derartige Beeinträchtigung der viralen Aktivität sind sämtliche Teilschritte bzw. Tei-

aspekte denkbar, einschließlich des Absorptionsvorganges, Internalisierungsvorganges, Integration der viralen DNA in das Wirtsgenom oder Stabilisierung im Zytoplasma der Wirtszelle, Replikation, Transkription und Translation, Zusammenbau des Viruskapsids und Freisetzung des Viruskapsids. Daneben eignen sich auch besonders Impfstoffe gegen diese Viren sowohl zur Therapie, besonders jedoch zur Prävention derartiger Gewebeveränderungen, wie im folgenden detaillierter ausgeführt werden wird.

Beispielhaft seien in der nachfolgenden Tabelle 1 Gewebeveränderungen angeführt, für die die erfindungsgemäßen Mittel jeweils angewandt werden können bzw. für deren Therapie und Prävention die bereits bekannten antiviralen Mittel, wie sie beispielsweise in Tabelle 2 gezeigt sind, verwendet werden können.

Tabelle 1

<b>Gewebeveränderung/ Tumor</b>	<b>Mesenchymale Komponente</b>	<b>Epitheliale Komponente</b>	<b>Entstehung maligner Tumoren</b>
Leiomyome (Uterus)	wie glatte Muskulatur, monoklonal, ca. 15% Mutationen der HMGI(Y)-Gene	fehlt	Möglichkeit der sarcomatösen Umwandlung fraglich; wenn überhaupt sehr selten
Endometrium-Polypen	Stroma, monoklonal, ca. 45% Mutationen der HMGI(Y)-Gene	polyklonal	Karzinomentstehung aus der epithelialen Komponente
Endometriose	vorhanden (Stroma)	vorhanden	wird nicht diskutiert
Fibroadenome (Mamma)	Stroma, klonale Chromosomenveränderungen beschrieben, ca. 10% Mutationen der HMGI(Y)-Gene	Drüsenepithel	Möglichkeit der Karzinomentstehung aus der epithelialen Komponente fraglich; wenn überhaupt sehr selten
Phyllodes-Tumoren (Mamma)	Stroma, klonale Chromosomenveränderungen / Mutationen der HMGI(Y)-Gene beschrieben	Drüsenepithel	teilweise maligne
Hamartome (Mamma)	wie Fettgewebe, monoklonal, Mutationen der HMGI(Y)-Gene beschrieben	Drüsenepithel	Möglichkeit der Karzinomentstehung aus der epithelialen Komponente fraglich; wenn überhaupt sehr selten
Prostata-Adenome	wie glatte Muskulatur (Synonym: Adenomyome), klonale Chromosomenveränderungen beschrieben	Drüsenepithel	Entstehung von Prostata-Karzinomen

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Lipome	Wie Fettgewebe, monoklonal, ca. 40% Mutationen der HMGI(Y)-Gene	fehlt	praktisch keine Umwandlung zum Liposarkom
Aggressive Angiomyxome	Myxoid, klonale Chromosomenveränderungen (Zielsen: <i>HMGIC</i> )	fehlt	charakteristisch: weitleumige Gefäße
Enchondrome	Wie hyaliner Knorpel, klonale Chromosomenveränderungen beschrieben (u.a. 12q14-15)	fehlt	praktisch keine Umwandlung zum Chondrosarkom
Pleomorphe Adenome (Kopfspeicheldrüsen)	mesenchymale und gemeinsamer klonaler wird angenommen,	epitheliale Komponente, Ursprung beider Anteile ca. 20% <i>HMGIC</i> -Mut.	Entstehung von Karzinomen <i>ex pleomorphic adenoma</i>
Kolon-Polypen (Kolon-Adenome)	Stroma	Darmepithel	Adenom-Karzinom-Sequenz histologisch gesichert
Hamartome (Lunge)	Wie hyaliner Knorpel, Fettgewebe, glatte Muskulatur, monoklonal, ca. 70% Mutationen der HMGI(Y)-Gene	epitheliale Spalten (Bronchialepithel)	Möglichkeit der Karzinomentstehung aus der epithelialen Komponente fraglich; wenn überhaupt sehr selten
Atherome	u.a. wie glatte Muskulatur, klonale Chromosomenveränderungen beschrieben	Endothelüberzug	wird nicht diskutiert

Tabelle 2: Übersicht über verschiedene antivirale Verbindungen, die im Rahmen der vorliegenden Erfindung verwendet werden können.

Wirkstoff	Handelsname (beispielhaft)	Wirkweise
Adenosinarabinosid	Vidarabin	Hemmung der viralen Replikation
Bromvinyluridinarabinosid	Brovavir, Sorivudin	Hemmung der viralen Replikation
9-(1,3-Dihydroxy-2-propoxy)methylguanin	Gabciclovir	Hemmung der viralen Polymerase
Trinatriumsalz der Phosphonoameisensäure	Foscarnet	Hemmung der viralen Polymerase
Interferon $\alpha$	Roferon A	Hemmung der viralen Proteinsynthese
Interferon $\beta$	Fiblaferon	Hemmung der viralen Proteinsynthese
Interferon $\gamma$	Imukin	Hemmung der viralen Proteinsynthese
Immunglobulin	Pentaglobin	Antikörper vermittelte antivirale Wirkung

Neben dem vorstehend geschilderten universellen Pathogenitätsmechanismus hat der Erfinder weiterhin überraschend festgestellt, daß die Entstehung der Gewebeveränderungen, die Gewebe mesenchymalen Ursprungs umfassen bzw. entsprechender Tumore, aufbauend auf der oben beschriebenen Infektion mit den besagten Viren durch ein zusätzliches Ereignis in sy-



nergistischer Weise gefördert wird. Bei diesem zusätzlichen Ereignis handelt es sich um chromosomale Veränderungen, insbesondere um solche, die die HMGI(Y) – Gene betreffen, d.h. Bruchpunkte struktureller Chromosomenaberrationen liegen entweder innerhalb der Gene oder in einer Entfernung von diesen, so daß es durch die strukturellen Chromosomenaberrationen zu einer transkriptionellen De-Regulierung der HMGI(Y)-Gene kommt. Infolge dieser chromosomalen Veränderung kommt es zur Expression nunmehr veränderter zellulärer Gene, die mit bestimmten viralen Sequenzen interagieren, wodurch der beobachtete synergistische Effekt bei der Genese der Gewebeveränderungen bedingt wird. Der Begriff der HMGI(Y)-Gene wird im folgenden im Zusammenhang mit den als erfindungsgemäße Mittel offenbarten Impfstoffen noch weiter ausgeführt werden.

Beispiele von Gewebeveränderungen, die neben der Infektion des mesenchymalen Gewebeanteils noch eine chromosomale Veränderung der HMGI(Y) aufweisen ergeben sich aus der obigen Tabelle 1, wobei beispielhaft auf Endometriumpolypen, Endometrioseherde, Hamartome der Lunge, Lipome, Fibroadenome der Mamma und pleomorphe Adenome der Speicheldrüsen verwiesen wird. Wie auch insbesondere aus Tabelle 1 ersichtlich, kann der Anteil derjenigen Gewebeveränderungen, die neben der Infektion durch die besagten Viren, d.h. HMGI-Viren und/oder DNA-Viren, noch eine chromosomale Veränderung der HMGI(Y)-Gene tragen, schwanken. Der Nachweis der chromosomalen Veränderung ist beispielsweise beschrieben in Kazmierczak et. al., Oncogene 12: 515 – 521.

Wie bereits vorstehend erwähnt, setzt die Prävention und Therapie mesenchymaler Gewebeveränderungen, die Gewebe mesenchymalen Ursprungs umfassen, bei einer antiviralen Therapie an. Die Gewebeveränderungen können jedoch neben der viralen Infektion noch chromosomale Veränderung betreffend die HMGI(Y)-Gene aufweisen. Auch derartige Gewebeveränderungen können, da auch sie letzten Endes auf einer viralen Aktivität beruhen, mit den hierin vorgeschlagenen Mitteln behandelt bzw. verhindert werden. Damit werden auch die eingangs beschriebenen Untersuchungen von Schoenmakers (a.a.O.) betreffend Mutationen der Gene der HMGI(Y)-Familie an Uterus-Leiomyomen erklärlich, wenngleich aus dem darin geschilderten Befund, die hierin offenbarte technische Lehre nicht abgeleitet werden konnte. Die Pathogenese der Leiomyome beruht eben nicht nur auf Mutationen, insbesondere Chromosomenaberrationen im Bereich der Loci von Mitgliedern der HMGI(Y)-Genfamilie, sondern es handelt sich, zumindest bei einigen dieser Fälle, d. h. Gewebeveränderung unter Beteiligung eines Gewebes mesenchymalen Ursprungs mit einer Mutation im Bereich der Gene

der HMGI(Y)-Gene, um eine Folge aus dem Zusammenwirken von Mutationseignissen der Mitglieder der HMGI(Y)-Genfamilie und einem Virus, insbesondere eines transformierenden Virus, bzw. Infektion mit einem solchen handelt, wobei die virale Infektion selbst bereits ausreicht, um eine Myomentstehung auszulösen, dessen Wachstumspotential durch eine - ggf. nachfolgende - Mutation von Genen der HMGI(Y)-Familie verstärkt wird.

Ohne im folgenden durch diese Annahmen beschränkt sein zu wollen, insbesondere nicht im Detail, scheint es derzeit so zu sein, daß infolge der Infektion mit einem transformierenden Virus sowie dessen folgender Persistenz, mutmaßlich nach Integration in das zelluläre Genom, in Zellen ohne weitere Mutation von Genen der HMGI(Y)-Familie die transformierenden viralen Proteine, ggf. nur schwach, exprimiert werden und die resultierenden Tumoren daher sehr langsam wachsen und klein bleiben. Infolge einer mutationsbedingten Re-Aktivierung von Genen der HMGI(Y)-Familie, z. B. durch Verlagerung von Enhancern in Juxta-Position zu den Genen, kommt es zu einer verstärkten Aktivierung der Gene der transformierenden Proteine und einer insgesamt erhöhten Expression derselben. Die in der Zelle vermehrt vorhandenen transformierenden Proteine führen zu einer deutlich höheren Wachstumsaktivität der entsprechenden Tumoren und somit zu einem verstärkten Tumorwachstum.

Konkret hat man gefunden, daß die Genprodukte der Mitglieder der Gene der HMGI(Y)-Familie, die typischerweise an Nukleinsäuren binden können, so bspw. beschrieben von French, S.W. et al. (French, S.W. et al.; Mol. Cell Biol., 1996; 16(10): 5393-99; Yie, J. et al.; Mol. Cell Biol., 1997, 17(7): 3649-62), auch an Nukleinsäure von transformierenden Viren binden, wobei bei Bindung im Bereich der regulatorischen Regionen der Nukleinsäure (z.B. Promotoren und Enhancer) die Genprodukte der Gene der HMGI(Y)-Familie auf die Transkriptionsrate der viralen transformierenden Proteine Einfluß nehmen.

Weiterhin hat man gefunden, daß die Genprodukte der Mitglieder der Gene der HMGI(Y)-Familie auch mit einem Genprodukt einer viralen Nukleinsäure wechselwirken können.

Diese Wechselwirkung kann in einer direkten Wechselwirkung der beiden Genprodukte, d.h. dem Genprodukt der viralen Nukleinsäure und demjenigen eines Gens der HMGI(Y)-Familie, bestehen. Eine andere Form der Wechselwirkung kann darin bestehen, daß diese durch eine weitere Komponente vermittelt wird, d.h. keine direkte Wechselwirkung der beiden Genprodukt-Spezies vorliegt. Diese vermittelnde weitere Komponente kann bspw. eine Nukleinsäure

sein, und insbesondere eine solche Nukleinsäure, die eine Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie aufweist, wie sie oben beschrieben wurde.

Infolge dieses Zusammenwirkens von Genprodukten der Gene der HMGI(Y)-Familie mit Nukleinsäure von transformierenden Viren, insbesondere den regulatorischen Regionen der Nukleinsäure (z.B. Promotoren und Enhancer) dieser Viren, kann der Entstehung von Gewebeveränderungen mit Gewebe mesenchymalen Ursprungs, wie sie beispielhaft in Tabelle 1 oben angegeben sind, dadurch entgegengewirkt werden, daß ein antivirales Mittel gegen die Viren verwendet wird. Wie vorstehend ausgeführt, sind allgemein derartige antivirale Mittel zu diesem Zweck geeignet, die gegen die an der Gewebeveränderung kausal beteiligten Viren gerichtet, d. h. aktiv sind. Die Viren sind die hierin beschriebenen Viren, d.h. HMGI-Viren und/oder DNA-Viren. Eine – bevorzugte – Untergruppe der hierin beschriebenen Viren sind solche Viren, bei denen das einzelne Virus eine Nukleinsäure aufweist bzw. für diese codiert, die mindestens eine Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate umfaßt oder die für ein Genprodukt codiert, wobei das Genprodukt mindestens mit einem Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate wechselwirkt, und die zur Gruppe der DNA-Viren gehören.

Im Zusammenhang damit scheinen innerhalb der Gruppe der DNA-Viren insbesondere die Adenoviren hierfür von besonderer Bedeutung zu sein. Eine weitere Gruppe von DNA-Viren, die für die hierin beschriebenen Gewebeveränderungen, die ein Gewebe umfassen, das mesenchymalen Ursprungs ist, von besonderer Bedeutung sind, sind Viren der Herpesgruppe, die im folgenden vereinfacht als Herpesviren bezeichnet werden. Desweiteren gehören zur Gruppe der DNA-Viren, die für die hierin beschriebenen Gewebeveränderungen von Bedeutung sind, die Papova-Viren. Der vorliegenden Erfindung liegt weiterhin die Erkenntnis zugrunde, daß für die hierin beschriebenen Gewebeveränderungen verschiedene Viren, insbesondere DNA-Viren, synergistisch wirken können.

Die erfindungsgemäßen antiviralen Mittel, die gegen die hierin beschriebenen Viren gerichtet bzw. wirksam sind, zu denen auch gegen diese Viren gerichtete Impfstoffe gehören, verhindern somit, daß die entsprechenden Gewebe, viral infiziert werden bzw. es zu einer Vermehrung des viralen Materials kommt und somit die Ausbildung des Komplexes aus viraler Nukleinsäure und Genprodukten der Gene der HMGI(Y)-Familie verhindert wird, was in der Folge dazu führt, daß die Ausbildung der Gewebeveränderungen unterbleibt.

Bei der Pathogenese der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen scheint weiterhin eine Bindung von Genprodukten viraler Nukleinsäure mit Genprodukten von Genen der HMGI(Y)-Familie und deren Derivaten zu erfolgen und infolge dessen sich der Einfluß der viralen transformierenden Proteine zu erhöhen. Infolge der verschiedenen antiviralen Mittel wird dieses Zusammenwirken letztendlich verhindert oder zumindest verringert.

Hierin soll Bindung eines Genprodukts von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivaten an virale Nukleinsäure oder an das Genprodukt viraler Nukleinsäure insbesondere eine jegliche Wechselwirkung der daran beteiligten Molekülspezies umfassen, die u.U. dazu führen kann, daß die den Komplex ausbildenden Komponenten nicht mehr als Einzelkomponenten wahrgenommen werden, sondern der Komplex die einzig wahrnehmbare Komponente ist, was jedoch nicht ausschließt, daß Einzelkomponenten noch in nicht-gebundener Form vorhanden sind. Eine derartige Bindung schließt bspw. Wechselwirkung durch elektrostatische Anziehungskräfte, van der Waals-Kräfte, hydrophobe Wechselwirkung, Wasserstoffbrückenbindungen und Disulfidbrücken und Kombinationen davon ein. Ein derartiger Komplex umfaßt zumindest die beiden Genproduktespecies, d.h. ein Genprodukt der viralen Nukleinsäure und ein Genprodukt der Gene der HMGI(Y)-Familie, die direkt miteinander wechselwirken können, kann aber auch zusätzlich eine Nukleinsäure umfassen, wobei auch in diesem Fall eine direkte Wechselwirkung der beiden Genproduktespecies erfolgen kann, jedoch nicht notwendigerweise erfolgen muß.

Insoweit betrifft ein Aspekt der Erfindung auch einen Impfstoff gegen transformierende Viren, der zur Prävention und/oder Behandlung der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen geeignet ist.

Grundsätzlich sind alle der hierin offenbarten Mittel sowohl zur Therapie als auch zur Prävention von Gewebeveränderungen der hierin beschriebenen Art geeignet. Ganz besonders vorteilhaft für die Prävention sind dabei solche Mittel, die einen Impfstoff gegen die hierin beschriebenen Viren, d.h. HMGI-Viren und/oder DNA-Viren, umfassen, die somit die bisherigen unbefriedigenden Therapie- und Präventionskonzepte mit ihren nicht unerheblichem Gefährdungspotential obsolet machen. Dabei ist besonders beachtlich, daß die Verwendung von Impfstoffen für den Körper besonders schonend, da mit in der Regel vergleichsweise weniger Nebenwirkungen verbunden, ist.

Die Herstellung von Impfstoffen gegen Viren ist in der Technik allgemein bekannt und bspw. beschrieben in Modrow, S.; Falke, D.; Molekulare Virologie, Spektrum, Akad. Verl., 1997.

Bei Impfstoffen sind grundsätzlich verschiedene Arten bekannt, nämlich Lebendimpfstoffe, die vermehrungsfähiges Virus enthalten, Impfstoffe aus inaktiviertem Virus, wobei die Viren in nicht mehr vermehrungsfähiger Form vorliegen, Spaltimpfstoffe, die nur aus den für die Immunisierung wichtigen Komponenten des Virus bestehen, auch als Subunit-Vakzine oder Antigenimpfstoffe bezeichnet, und sogenannte „synthetische Antigenimpfstoffe“. Alle vorerwähnten Impfstoffformen können im Rahmen der vorliegenden Erfindung verwendet werden.

Lebendimpfstoffe enthalten vermehrungsfähige Virusstämme, die einen spezifischen Schutz bewirken, aber bei gesunden Tieren zu keiner Erkrankung führen. Ein Lebendimpfstoff kann entweder aus homologen (artgleichen) oder heterologen (artfremden) Virusstämmen hergestellt werden. Als homologe Impfstoffe können natürlich gewonnene oder künstlich hergestellte Stämme eines Virus verwendet werden.

Natürlich gewonnene Impfvirusstämme stammen von Feldstämmen ab, die nur noch eine schwache bzw. keine Virulenz mehr besitzen, also bei gesunden Tieren keine Erkrankung mehr hervorrufen, sich aber im Wirt vermehren und die Ausbildung einer Immunität bewirken.

Eine Untergruppe der Lebendimpfstoffe betrifft die künstlich abgeschwächten, attenuierten Stämme. Sie werden aus gut immunisierenden, vollvirulenten Feldviren dadurch gewonnen, daß sie nach einer mehr oder weniger großen Anzahl von Passagen, bevorzugt in Zellkulturen, künstlich kultiviert werden, wodurch sie ihre Virulenz für den natürlichen Wirt verlieren. Der Virulenzverlust in einer derartigen passierten Viruspopulation tritt nicht gleichzeitig bei allen Viruspartikeln ein. Durch bestimmte Selektionsverfahren kann man aber attenuierte Viruspartikel isoliert gewinnen (z. B. Plaque-Methode, Endverdünnungsmethode usw.).

Unter Attenuierung versteht man eine gezielte Abschwächung oder Aufhebung der Virulenz eines vermehrungsfähigen Virus für einen bestimmten Wirt unter Erhaltung der Vermehrungsfähigkeit, der Antigenität und der Immunogenität, die über eine bestimmte Generationsfolge konstant bleibt.

Die Attenuierung kann eine Modifikation oder eine Mutation hinsichtlich Verlust der krankmachenden Eigenschaften, hier im vorliegenden Falle insbesondere hinsichtlich der transformierenden Eigenschaften, sein. Sie ist entsprechend mehr oder weniger stabil. Während man in früherer Zeit für eine künstliche Virulenzabschwächung vorwiegend Passagen in Tieren oder Bruteiern durchführte, gewinnt man heute attenuierte Stämme hauptsächlich aus Zellkulturen über Dauerpassagen.

Lebendvakzine aus heterologen Virusstämmen können dann einen Immunschutz bewirken, wenn zwischen artverschiedenen Viren sehr enge immunologische Verwandtschaftsbeziehungen bestehen. Man kann dann als Impfstamm den verwandten heterologen und deshalb nicht krankmachenden Virusstamm verwenden.

Lebendvakzine haben Vor- und Nachteile. Durchschnittlich wird mit ihnen eine bessere und länger anhaltende Immunität erzielt. Ein gut attenuiertes Impfvirus kann den Immunitätsmechanismus nur dann stimulieren, wenn es in ausreichender Konzentration verabreicht wird. Die Bestimmung einer entsprechenden ausreichenden Konzentration kann durch einfache routinemäßige Versuche erfolgen, die im Rahmen des Könnens des Durchschnittsfachmanns liegen. Der Impfschutz setzt in der Regel schon nach wenigen Tagen nach der Impfung ein. Verantwortlich sind hierfür mehrere Vorgänge: Interferenz, Interferon-Bildung, schnelle Entwicklung einer zellulären Immunität. Ein weiterer Vorteil von Lebendvakzinen besteht darin, daß sie sehr leicht lokal appliziert werden können, z. B. oral oder per Aerosol. Dies ist besonders mit Blick auf die vergleichsweise leichte Zugänglichkeit der betroffenen Gewebe bzw. Organe im Falle der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen vorteilhaft, da in einem solchen Fall der Endverbraucher ein entsprechendes Mittel selbst anwenden kann.

Weiterhin können gemäß der vorliegenden Erfindung Impfstoffe aus inaktivierten Viren verwendet werden. Als Virusinaktivierung wird generell die Aufhebung der Infektiosität eines Virusteilchens bezeichnet. In der Impfstoffherstellung speziell versteht man unter Inaktivierung, daß Viren künstlich, mit chemisch-physikalischen Verfahren, die Vermehrungsfähigkeit genommen wird, ohne daß dabei die anderen Aktivitäten, insbesondere die antigenen und immunogenen Fähigkeit negativ beeinflußt werden. Für Impfstoffe aus inaktivierten Viren findet sich in der Literatur teilweise noch der Begriff „antigener Impfstoff“.

Als Ausgangsmaterial für diese Impfstoffe dienen aus virushaltigen Organen oder Geweben, heute jedoch in erster Linie aus Zellkulturen hergestellte, gereinigte und hochkonzentrierte Virussuspensionen von vollvirulenten gut immunisierenden Virusstämmen. Diese konzentrierten Virussuspensionen werden dann schonend durch geeignete Verfahren inaktiviert. Optimal sind chemische oder physikalische Behandlungen, die die Virusnukleinsäure als Träger der Vermehrungsfähigkeit und Infektiosität zerstören, jedoch die Proteinanteile des Virus, die wirksame Komponenten für Antigenität und Immunogenität sind, möglichst wenig schädigen, denaturieren oder verändern. Bewährte Mittel sind z. B. Formaldehyd und bestimmte Detergenzien. Als physikalische Komponenten verwendet man Wärme und Strahlen.

Weiterhin können im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung Spaltimpfstoffe verwendet werden, die durch Aufspaltung von Viren gewonnene antigene und immunisierende Viruskomponenten in, in der Regel, gereinigter Form enthalten.

Bei den behüllten Viren sind dies die virusspezifischen Glycoproteide der lipidhaltigen Hüllen. Spezifische Antikörper gegen diese Antigene binden in vivo an die Glycoproteide des Virus, blockieren dadurch deren Haftungsfunktion an die Zellen und damit die Infektiosität.

Die immunisierenden Glycoproteide behüllter Viren kann man durch die chemische Aufspaltung der Virushülle (bestimmte lipidlösende Detergenzien) freisetzen. Das Virus verliert dadurch spontan und restlos seine infektiösen Eigenschaften und anschließend wird das gewünschte Glycoprotein von unerwünschten Komponenten wie Nukleoprotein, Kapsidenzym, Lipide etc. des aufgespaltenen Virusmaterials durch physikalisch-chemische Verfahren gereinigt, konzentriert und zum Impfstoff verarbeitet.

Bei unbehüllten, nackten Viren sind Spaltimpfstoffe aus den für die Immunisierung maßgeblichen Kapsidproteinen von den Fachleuten auf dem Gebiet entwickelbar.

Schließlich können auch synthetische antigene Impfstoffe verwendet werden, die mittels gentechnologischer Verfahren hergestellt werden. Über Isolierung und Identifizierung der maßgeblichen Gene des Virusgenoms kann beispielsweise das Kapsidprotein der entsprechenden Viren gentechnologisch produziert werden. Dabei ist es im Rahmen der Fähigkeiten des Fachmannes die entsprechende Nukleinsäure bzw. daraus resultierenden Proteine soweit zu verkürzen, daß lediglich die antigene Determinante bzw. das entsprechende Epitop als

Impfstoffkomponente verbleibt. In diesem Sinne ist auch die erfindungsgemäße Vorrichtung zu verwenden. Die an das mit Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie versehene Trägermaterial gebundene virale Nukleinsäure kann, in der Regel nach Elution, dazu verwendet werden, zu bestimmen welches Virus, bzw. dessen Nukleinsäure, an der Ausbildung des für die Entstehung der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen verantwortlichen Komplexes aus viraler Nukleinsäure und Genprodukt eines Gens der HMGI(Y)-Familie beteiligt ist.

Nach dieser Identifizierung kann die erfindungsgemäße Vorrichtung aber auch für die Bereitstellung einer für die Herstellung eines erfindungsgemäßen Mittels zur Prävention und/oder Behandlung der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen wesentliche Komponente verwendet werden. Dabei wird eine virale Nukleinsäure oder ein Pool viraler Nukleinsäuren zu der erfindungsgemäßen Vorrichtung gegeben, woraufhin diejenige virale Nukleinsäure an die Vorrichtung bzw. an das in dieser an ein Trägermaterial gebundene Genprodukt eines Gens der HMGI(Y)-Familie bindet, die mindestens eine Bindungsstelle für das Genprodukt eines Gens der HMGI(Y)-Familie aufweist. Nicht gebundene oder unspezifisch gebundene virale Nukleinsäure wird entfernt, beispielsweise durch Waschen des Trägermaterials mit einer geeigneten Waschlösung. Anschließend wird die spezifisch gebundene virale Nukleinsäure vom Trägermaterial eluiert. Die solchermaßen erhaltene Nukleinsäure kann dann verwendet werden, um einen viralen Bestandteil zu bilden, der in den erfindungsgemäßen Mitteln verwendet wird. Beispielsweise kann die virale Nukleinsäure in einen Expressionsvektor kloniert werden und das exprimierte virale Peptid oder Protein als Impfstoff verwendet werden. Alternativ kann beispielsweise das solchermaßen exprimierte virale Peptid oder Protein, möglicherweise nach weiteren Zwischenschritten, die den Fachleuten bekannt sind, zur Herstellung von Antikörpern verwendet werden, die dann ihrerseits als Impfstoff in den erfindungsgemäßen Mitteln verwendet werden können. Im Zusammenhang damit ist das exprimierte virale Peptid oder Protein bzw. der dagegen gerichtete Antikörper die für die Herstellung eines Mittels zur Prävention und/oder Behandlung der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen wesentliche Komponente.

Gleiches gilt auch für den Fall der Bindung eines Genproduktes der viralen Nukleinsäure an ein Genprodukt eines Gens der HMGI(Y)-Familie. In diesem Fall werden anstelle der viralen Nukleinsäure die Genprodukte viraler Nukleinsäure, insbesondere Nukleinsäure von Kandidatenviren, d.h. solchen Viren, die mutmaßlich an der - kausalen - Entstehung der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen beteiligt sind, hinzugegeben. Die nach spezifischer Bin-



dung und anschließender Elution erhaltenen, von viraler Nukleinsäure codierten Genprodukte können sodann direkt als Impfstoff verwendet werden oder weiteren Modifikation oder weiteren Bearbeitungsschritten unterworfen werden. Dabei kann auch vorgesehen sein, daß die Impfstoffe weiter gereinigt werden oder mit entsprechenden Adjuvantien versetzt oder für die angestrebte Verwendung in geeigneter Weise behandelt oder zubereitet werden werden.

Den Impfstoffen können Adjuvantien hinzugesetzt werden, wie bspw. vollständiges oder unvollständiges Freundsches Adjuvans. Weitere Zusätze sind den Fachleuten auf diesem Gebiet bekannt.

Allgemein können die erfindungsgemäßen Mittel als pharmazeutisches Präparat vorliegen, das neben mindestens einem der verschiedenen erfindungsgemäßen Mittel auch einen geeigneten pharmazeutisch akzeptablen Träger umfaßt. Geeignete pharmazeutisch akzeptable Träger sind den Fachleuten bekannt.

Die erfindungsgemäßen Mittel können weitere Zusätze, die bspw. der Stabilisierung des Mittels, der Konservierung, der Modifikation der Eigenschaften des Mittels selbst dienen, sowie Stoffe, die die Eigenschaften der erfindungsgemäßen Mittel modifizieren, umfassen.

Derartige Stoffe, die die Eigenschaften des erfindungsgemäßen Mittels selbst modifizieren, können bspw. im Falle von Impfstoffen Adjuvantien, wie bspw. unvollständiges oder vollständiges Freundsches Adjuvans, sein.

Die erfindungsgemäßen Mittel können weiterhin Komponenten aufweisen, die sie in eine für die jeweilige angestrebte Applikationsform bevorzugte Form überführen. So kann z. B. im Falle der Ausbildung der erfindungsgemäßen Mittel als Aerosole neben dem eigentlichen Mittel ein für die Aerosolbildung erforderliches Trägermaterial vorgesehen sein.

Das erfindungsgemäße Mittel kann bspw. in Form einer Lösung oder Emulsion zur intradermalen, intravenösen oder subkutanen Injektion vorliegen. Flüssige Lösungen der erfindungsgemäßen Mittel können auch in infundierbarer Form vorliegen.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Mittel in lyophilisierter Form vorliegen.

Darüberhinaus können die erfindungsgemäßen Mittel grundsätzlich in einer jeglichen pharmazeutisch geeigneten Form vorliegen, einschließlich, bspw., Tabletten, Dragees, Suppositorien, Gele, Pulver.

Für den Fall, daß das Mittel einen Impfstoff umfaßt, kann der Impfstoff selbst ein vollständiges Viruspartikel sein, lebend oder attenuiert, ebenso wie inaktiviert oder Teile davon, wobei die Teile davon typischerweise die antigenen und immunologischen Eigenschaften des jeweiligen Virus tragen. Es kann dabei vorgesehen sein, daß der Impfstoff eine Vielzahl verschiedener Viruspartikel oder antigenen bzw. immunogen\_wirksamer Teile umfaßt. Die Viruspartikel sowie die Teile können selbst in modifizierter Form vorliegen. Derartige Modifikationen können ausgebildet sein durch, wie dies allgemein für Peptide, Proteine, die ggf. glycosyliert sind, bekannt ist.

Die Viruspartikel oder Teile davon können gentechnologisch hergestellt sein. Es ist nicht erforderlich, daß die Viruspartikel oder Teile davon mit den für die Entstehung der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen verantwortlichen oder zumindest damit assoziierten Viren identisch ist. Entscheidend ist, daß die im Impfstoff verwendeten oder zu dessen Herstellung verwendeten Viren, einschließlich Teile davon, geeignet sind, eine gegen das für die Erkrankung kausale Agens, d.h. Virus, gerichtete Immunantwort zu erzeugen und somit die transformierenden Eigenschaften des an der Pathogenese beteiligten Agens bzw. Virus zu verhindern.

Das vorstehend Gesagte gilt sinngemäß auch für den Fall, daß der Impfstoff einen Antikörper umfaßt.

Man hat gefunden, daß die Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate auf der Nukleinsäure des Virus eine Reihe von Struktur- und Sequenzmerkmalen umfaßt. Grundsätzlich scheint für die Bindung von Genprodukten der HMGI(Y)-Familie, Teilen davon und deren Derivaten, das Vorhandensein einer - ersten - AT-reichen Sequenz von Bedeutung zu sein. Dabei ist AT-reiche Sequenz nicht so zu verstehen, daß dies eine ausschließliche Abfolge bestehend aus AT-Dimeren ausbildet. Vielmehr kann diese Sequenz eine beliebige Reihenfolge der beiden Basen umfassen, die durch einzelne oder mehrere Nukleotide unterbrochen sein kann. Neben diesem ersten Struktur- und Sequenzmerkmal weisen die besagten Bindungsstellen der Genprodukte der HMGI(Y)-Familie noch

eine zweite AT-reiche Sequenz auf, die ähnlich ausgebildet sein kann wie die erste AT-reiche Sequenz. Beide AT-reiche Sequenzen sind in einer räumlichen Distanz relativ zueinander angeordnet. Diese räumliche Distanz ergibt sich aus den räumlichen Abmessungen und damit aus der Sekundär- und Tertiärstruktur der HMGI(Y)-Proteine, d.h. der Genprodukte der Gene der HMGI(Y)-Familie. Infolge dieser Sekundär- und Tertiärstruktur ist für ein Binden des HMGI(Y)-Genproduktes erforderlich, daß die erste Sequenz und die zweite Sequenz relativ zueinander in einer Ebene auf der viralen Nukleinsäure angeordnet sind. Betrachtet man die DNA als dreidimensionales Modell, so liegen bei der vorgeschilderten Anordnung die als Bindungsstellen wirkenden AT-reichen Sequenzen auf der dem Betrachter jeweils zugewandten Seite. Diese Anordnung wird auch als „same face“ bezeichnet. Liegen diese drei Struktur- bzw. Sequenzmerkmale der viralen Nukleinsäure vor, kommt es zu einem besonders nachhaltigen Binden des Genprodukts an die virale Sequenz, insbesondere in regulatorischen Regionen der Nukleinsäure (z.B. Promotoren und Enhancer), da bevorzugt diese die besagten Struktur- und Sequenzmerkmale aufweist. Fehlt eines oder mehrere dieser Sequenz- bzw. Strukturmerkmale, wird die Bindung eines Genproduktes der Gene der HMGI(Y)-Familie nur schwach oder gar nicht erfolgen.

Betrachtet man umgekehrt die Sekundär- bzw. Tertiärstruktur der Genprodukte der Gene der HMGI(Y)-Familie, so existieren dort drei Bereiche, oder Domänen, die in einer definierten Entfernung voneinander angeordnet sind, die zu AT-reichen Sequenzen eine – hohe – Affinität aufweisen. Eine erfolgreiche Bindung an eine Nukleinsäure setzt somit voraus, daß die AT-reichen Sequenzen in einer hierzu korrespondierenden Entfernung angeordnet sind. Diese Entfernung resultiert aus der Ganghöhe der Nukleinsäure, die in der Regel ca. 10 Basenpaare beträgt, woraus resultiert, daß der Abstand der AT-reichen Sequenzen in der Regel 10 Basenpaare sowie ganzzahlige Vielfache bis zu  $\leq 3$  davon beträgt.

Gemäß der vorliegenden Erfindung sind neben Impfstoffen allgemein, besonders solche Impfstoffe gegen die hierin beschriebenen Viren, d.h. HMGI-Viren und/oder DNA-Viren, solche Impfstoffe für die erfindungsgemäßen Mittel geeignet, die gegen ein vorstehend genanntes Virus gerichtet sind, dessen Nukleinsäure mindestens eine Bindungsstelle für mindestens ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate aufweist. Gene der HMGI(Y)-Familie sind in der Technik gut bekannt.

Die Gene der HMGI(Y)-Familie stellen eine Familie von Genen dar, die, unter anderem, HMGIC, HMGIY und MAG-Gene umfaßt. Beispielhaft sei hierzu auf die internationale Patentanmeldungen PCT/EP96/00716 und PCT/DE96/02494 beschrieben, deren Offenbarungsgehalt hierin durch Bezugnahme aufgenommen wird. Beachtlich ist, daß die Bindungsstelle auf der viralen Nukleinsäure für ein beliebiges der vorstehend genannten Gene bzw. dessen Genprodukt geeignet ist. Hierin soll der Begriff Genprodukt auch Teile davon bezeichnen, solange diese Teile noch geeignet sind, eine virale Nukleinsäure zu binden. Gleichfalls soll der Begriff Genprodukt die jeweiligen Derivate des Genproduktes umfassen, die eine Modifikation aufweisen, wie sie üblicherweise für Peptide und Proteine vorgenommen werden kann, und bspw. Deletionen und Austausche der carboxyterminalen Abschnitte der Proteine umfaßt. Insbesondere umfaßt der Begriff Derivate der Gene der HMGI(Y)-Familie auch die in PCT/DE96/02494 beschriebenen aberranten Transkripte sowie deren Translationsprodukte, solange diese nach wie vor in der Lage sind, an die virale Nukleinsäure, insbesondere in regulatorischen Regionen der Nukleinsäure (z.B. Promotoren und Enhancer) derselben, zu binden. Die Charakterisierung derartiger aberranter Transkripte ist bspw. beschrieben von Kazmierczak, B. et al; Am. J. Pathol., 1998; 153(2):431-5 und deren Struktur bspw. von Schoenmakers, E. F. et al, aaO.

In einer alternativen Ausführungsform der erfindungsgemäßen Mittel kann vorgesehen sein, daß der Impfstoff ein Antikörper ist, der gegen das Virus bzw. zumindest einen der hierin beschriebenen Viren gerichtet ist. Es ist dabei ausreichend, wenn der Antikörper nicht primär gegen das Virus oder einen entsprechenden Teil davon gerichtet ist, sondern vermittelt einer entsprechenden Kreuzreaktivität seine Wirkung erfüllt und entsprechend gewährleistet, daß es zu keiner Wechselwirkung zwischen der viralen Nukleinsäure mit dem Genprodukt der Gene der HMGI(Y)-Familie in dem Sinne kommt, daß der oben beschriebene Pathogenitätsmechanismus greift und es zu den beschriebenen Gewebeeränderungen kommt. Dabei kann vorgesehen sein, daß der Antikörper gegen eine jede beliebige Komponente des Virus gerichtet ist, d.h. er kann gerichtet sein gegen bzw. wechselwirken mit Proteinen oder Proteinfragmenten des Viruskapsids, des gegebenenfalls vorhandenen Glycopeptids oder aber auch mit der entsprechenden viralen Nukleinsäure bzw. Fragmenten davon.

Der Antikörper, wie er im Rahmen der Erfindung verwendet wird, kann ein monoklonaler Antikörper oder polyklonaler Antikörper sein. Der Begriff Antikörper kann hierin eine Mischung verschiedener monoklonaler Antikörper umfassen. Weiterhin soll hierin der Begriff

Antikörper ein jegliches Peptid oder Protein umfassen, welches mindestens eine Antikörpereigenschaft aufweist, insbesondere an ein geeignetes Epitop bindet und dafür sorgt, daß der Komplex aus Antikörper plus Epitop bzw. Antigen in einer für die Pathogenese der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen nicht mehr zugängliche Form überführt wird bzw. aus dem Pathogeneseprozeß entfernt wird. Dies kann bspw. dadurch erfolgen, daß eine Wechselwirkung eines Genproduktes eines Gens der HMGI(Y)-Familie mit der viralen Nukleinsäure oder eine solche mit einem Genprodukt einer viralen Nukleinsäure (wobei das entsprechende Virus - kausal - an der Entstehung der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen beteiligt ist) letztenendes vermieden wird, wobei diese Verhinderung sowohl direkt als auch indirekt bedingt werden kann, indirekt bspw. durch Entfernen der entsprechenden Viren bzw. Virenpartikel. Der Begriff Antikörper schließt auch Antikörperfragmente und deren Derivate ein, so insbesondere (Fab)' oder F(ab)<sub>2</sub>-Fragmente sowie Einzelketten-Antikörper und dgl. Derivate dieser Antikörper sind den Fachleuten ebenfalls bekannt und schließen insbesondere ein.

Das vorstehend Gesagte gilt sinngemäß auch für den Fall, daß ein Impfstoff gegen ein Virus vorgesehen ist, dessen Nukleinsäure für ein Genprodukt codiert, wobei dieses Genprodukt mindestens mit einem Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate wechselwirkt.

Die Viren, gegen die ein Impfstoff bzw. ein Antikörper in den erfindungsgemäßen Mittel enthalten ist, gehören zu den verschiedenen Gruppen der hierin beschriebenen Viren mit ihren verschiedenen Typen.

Bei der erfindungsgemäßen Verwendung des erfindungsgemäßen Mittels zur Immunisierung, und insbesondere aktiven Immunisierung, gegen die Viren, die mit der Pathogenese und/oder Ätiologie der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen verbunden sind, sind bevorzugt die Viren jene, die kausal mit der Pathogenese/Ätiologie der hierin beschriebenen Gewebeveränderungen verbunden bzw. assoziiert sind.

Bei den erfindungsgemäßen Verfahren werden Zellkulturen verwendet, die abgeleitet sind von einer Gewebeveränderung bzw. Teilen des/der sie aufbauenden Gewebes/Gewebe. Die Herstellung derartiger Zellkulturen ist den Fachleuten bekannt und ist bspw. beschrieben in Stern, C. et al.; Geburtsh. u. Frauenheilk. 52 (1992), 767-772.

Unter normalem Karyotyp soll hierin verstanden werden der Chromosomensatz, wie er nach Anwendung routinemäßiger Techniken erhalten wird, sofern er bei einer Darstellung von  $\geq 500$  Banden pro haploidem Satz keine erkennbaren Anomalien insbesondere der Bereiche 12q14-15 und 6p21 aufweist.

Ein Expressionsvektor für ein Gen der HMGI(Y)-Familie zeichnet sich dadurch aus, daß er in seiner Gesamtheit zur Expression eines Gens der HMGI(Y)-Familie führt und damit zur Herstellung entsprechender Genprodukte. Typischerweise umfaßt ein derartiger Expressionsvektor einen Replikationsursprung, die für ein Genprodukt der HMGI(Y)-Genfamilie oder Fragment davon kodierende Nukleinsäure, und geeignete transkriptions- und translationsregulierende Sequenzen. Derartige Konstrukte sind in der Technik bekannt und bspw. beschrieben in Winnacker, E.-L.; From Genes to Clones; Weinheim; New York: VCH, 1987.

Prinzipiell ist ein jegliches Transfektionsverfahren im Rahmen der vorliegenden Erfindung anwendbar, welches zu einer Transfektion der entsprechenden Zellkulturen führt.

Die Herstellung von cDNA ist den Fachleuten bekannt. Für den Vergleich des RNA- bzw. cDNA-Musters der transfizierten Zellen bzw. Kulturen mit demjenigen von nicht-transfizierten Zellen bzw. Kulturen wird typischerweise so vorgegangen, wie unter der Methode des sogenannten „differential display“ verstanden (Diatchenko, L.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 93, S. 6025-6030, 1996).

Bei der Überprüfung von in den transfizierten Kulturen gegenüber Kontrollkulturen exprimierten oder verstärkt exprimierten RNA(s) durch Sequenzhomologie auf das Vorhandensein viraler Elemente wird typischerweise so vorgegangen, daß die Sequenz unter Zuhilfenahme von einschlägigen Datenbanken, z.B. BLAST, ein Datenbankservice des National Center for Biotechnology Information (NCBI), überprüft bzw. gegebenenfalls identifiziert werden.

Es ist im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens, daß auch von den primären Transkriptionsprodukten abgeleitete Nukleinsäuren für den Vergleich des RNA-Musters der transfizierten Kulturen mit demjenigen von Kontrollkulturen herangezogen werden können. Entsprechend ist es möglich, diesen Vergleich auf der Grundlage des cDNA-Musters anzustellen, wobei die cDNA von den Transkriptionsprodukten, d.h. den RNA-Spezies, hergestellt wurde unter Verwendung von bekannten Verfahren.

Die Kontrollkulturen sind in der Regel jene mit normalem Karyotyp, die abgeleitet sind von einem Gewebe oder Teil eines Gewebes, welches in einer hierin beschriebenen Gewebeveränderung enthalten ist, und welche mit einem Expressionsvektor transfiziert sind, dem jedoch das Gen der HMGI(Y)-Familie oder dessen Derivat, d.h. das für ein Genprodukt codierende Insert, fehlt. Kontrollkulturen können aber auch solche sein, die mit keinerlei Expressionsvektor transfiziert sind.

Bei einem weiteren erfindungsgemäßen Verfahren, bei dem die Durchführung eines PCR-Tests vorgesehen ist, wobei die für die PCR-verwendete Sonde eine virale Sonde ist, erfolgt der PCR-Test nach den in der Technik bekannten Verfahren. Unter PCR-Test wird ein Polymerase-Kettenreaktion-Test verstanden, bei dem mindestens ein sequenzspezifischer Primer zur selektiven Amplifikation der gesuchten Nukleinsäure bzw. des gesuchten Nukleinsäurefragmentes verwendet wird. (siehe Newton, C.R.; Graham, A.; „PCR“; 1994, Spektrum Akadem. Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford.

Unter Primer oder viraler Sonde sollen hierin Oligonukleotide und/oder Nukleinsäurefragmente verstanden werden, die gerichtet sind auf eine Detektion von Nukleinsäuren, die eine Homologie zu dem Primer/der Sonde aufweisen. Die Herstellung derartige viraler Sonden kann auf allen den Fachleuten bekannte Wegen erfolgen, so bspw. durch organische chemische Synthese oder unter Verwendung von PCR oder Klonierungstechniken.

Wird im Rahmen eines erfindungsgemäßen Verfahrens eine cDNA-Bibliothek von einer Gewebeveränderung, wie sie hierin beschrieben ist, oder eines Teils davon angelegt, die/der eine Aktivierung eines Gens der HMGI(Y)-Familie oder eines Derivates aufweist, so kann die Aktivierung durch eine entsprechende Chromosomenaberration kenntlich sein.

Bei den erfindungsgemäßen Verfahren wird das Screenen typischerweise unter Bedingungen niedriger Stringenz vorgenommen. Unter Bedingungen niedriger Stringenz soll dabei verstanden werden, daß durch Herabsetzen bspw. der Hybridisierungstemperatur oder Modifikation der Waschbedingungen (z.B. Erhöhung der Salzkonzentration) auch eine Bindung an solche Nukleinsäuren erfolgt, deren Homologie zu der Sequenz der Sonde deutlich reduziert ist, wobei zunächst ggf. auch eine Erfassung falsch-positiver Nukleinsäuresequenzen in Kauf genommen wird, da eine letztendliche Klärung ob es sich um ein positives Signal bzw. Ergebnis

handelt, durch Sequenzierung und Sequenzanalyse der identifizierten Sequenzen erfolgt bzw. erfolgen kann und somit eine Ausscheidung der falsch-positiven Sequenzen zuläßt.

Bei den erfindungsgemäßen Verfahren kann, nachdem durch einen Vergleich des RNA – oder cDNA – Musters von transfizierten Zellkulturen mit dem von Kontrollkulturen, oder durch ein positives Signal in einem PCR-Test unter Verwendung von Primer(paaren), die Sequenzen viraler Nukleinsäuren entsprechen, oder durch ein positives Signal beim Screenen einer cDNA-Bibliothek mit einer virusspezifischen Sonde, oder durch Analyse der cDNA-Klone auf virale Sequenzen oder Vergleich mit einer cDNA-Bibliothek aus normalem mesenchymalen bzw. ggf. epithelialen Gewebe, festgestellt wurde, daß virale Elemente in den hierin beschriebenen Gewebeveränderungen bzw. den davon abgeleiteten Zellkulturen vorhanden sind, weiterhin vorgesehen sein, daß die viralen Elemente identifiziert und/oder klassifiziert und ausschließlich für die Impfstoffherstellung verwendet werden.

Die erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Bestimmung eines an der Pathogenese beteiligten Virus umfaßt ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie, das an einen Träger gebunden ist. Im Zusammenhang mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung sowie deren möglichen Verwendungen umfaßt der Begriff Genprodukt auch Teile der Genprodukte oder Derivate der Genprodukte. Dabei liegt der Definition von Genprodukten auch die oben gegebene Definition von Genen der HMGI(Y)-Familie zugrunde.

Das Genprodukt ist dabei an ein Trägermaterial gekoppelt, das vom Fachmann auf dem Gebiet entsprechend ausgewählt wird. Als Trägermaterialien eignen sich all jene Materialien, die eine Bindung von Proteinen oder Derivaten, sei es direkt oder indirekt erlauben. Geeignete Trägermaterialien finden sich typischerweise im Bereich der Chromatographiematerialien. Eine derartige Bindung kann auch eine Adsorption sein bzw. eine reversible Bindung. Da es sich bei den Genprodukten der HMGI(Y)-Familie um Proteine handelt, können die den Fachleuten auf dem Gebiet bekannten Verfahren und Verbindungen zur Immobilisierung von Proteinen verwendet werden.

Hinsichtlich der Gestaltung des/der an das Trägermaterial gebundenen Genproduktes bzw. Genprodukte ist im wesentlichen darauf zu achten, daß derjenige Bereich an das Trägermaterial gebunden ist bzw. für Bindung viraler Nukleinsäure zur Verfügung steht, der für das Binden an die virale Nukleinsäure verantwortlich ist. Insoweit kann das entsprechende Genpro-



dukt verkürzt sein oder bspw. als Fusionsprotein zur Verfügung gestellt werden. Ein jegliches Konstrukt ist dabei denkbar, sofern der Nukleinsäure-bindende Teil des Genproduktes oder derjenige Teil des Genproduktes der Gene der HMGI(Y)-Familie, der für das Binden des Genproduktes der viralen Nukleinsäure verantwortlich ist, noch für eine Bindung einer Nukleinsäure zur Verfügung steht.

Im konkreten Fall kann eine derartige Vorrichtung so ausgebildet sein, daß es sich dabei um eine affinitätschromatographische Säule handelt, wobei an das Säulenmaterial entsprechend zumindest ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie, sei es nun von einem Genprodukt oder verschiedenen Genprodukten, immobilisiert ist und verschiedenen Ansätze oder auch Gemische von viraler Nukleinsäure oder von von viraler Nukleinsäure codiertem Genprodukt zur Trägermatrix hinzugegeben werden. Infolge der Wechselwirkung zwischen dem Genprodukt und der viralen Nukleinsäure bzw. dem Genprodukt der viralen Nukleinsäure kommt es zur Ausbildung eines stabilen Komplexes. Nicht spezifisch gebundene virale Nukleinsäure oder ungebundene Nukleinsäure bzw. nicht spezifisch gebundenes oder ungebundenes Genprodukt von viraler Nukleinsäure sowie weitere Bestandteile der aufgetragenen Probe werden von der Säule gewaschen. Durch einen geeigneten Elutionspuffer werden so dann – ggf. spezifisch – die Wechselwirkungen zwischen dem Genprodukt und der an das Genprodukt gebundenen viralen Nukleinsäure bzw. dem gebundenen Genprodukt der viralen Nukleinsäure verringert, so daß die entsprechenden viralen Nukleinsäuren oder die von diesen codierten Genprodukte eluiert und weiter analysiert werden können.

Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele, experimentellen Befunde und Figuren weiter erläutert. Dabei zeigt

- Fig. 1            die Größenverteilung der Myome mit normalem Karyotyp (graue Säulen) sowie mit 12q14-15-Aberrationen (schwarze Säulen);
- Fig. 2            eine Übersicht der in Beispiel 4 verwendeten Vektoren;
- Fig. 3a-c        einen Sequenzvergleich verschiedener Sequenzen aus Myomgewebe mit adenoviralen Sequenzen;

- Fig. 4a-b eine vergleichende Analyse verschiedener aus Myomgewebe erhaltener Sequenzen;
- Fig. 5 Mögliche HMGI(Y)-Bindungsstellen in der Promotorsequenz des adenoviralen Proteins E1A; und
- Fig. 6 das Ergebnis einer PCR-Analyse, mit der die Anwesenheit eines adenoviralen DNA-Fragmentes in verschiedenen Gewebeveränderungen untersucht wurde.

### Beispiel 1

Die Ergebnisse bisheriger zytogenetischer Studien an Uterus-Myomen sind widersprüchlich bezüglich möglicher Korrelationen zwischen der Tumorgroße und dem Auftreten klonaler Chromosomenaberrationen. Das Problem dieser Studien ist allerdings, daß die untersuchten Tumoren möglicherweise z. B. nach Größe selektiert sind. Da die Frage einer möglichen Korrelation aber auch damit zusammen hängt, ob die Chromosomenaberrationen sekundär auftreten und das Wachstumspotential der betroffenen Tumoren verstärken, wurde eine Studie an unselektierten Myomen durchgeführt. Untersucht wurden dabei nur Myome nach Hysterektomie, wobei alle Tumoren untersucht wurden, die durch Tastuntersuchung des operativ entfernten Uterus nachweisbar waren.

Insgesamt wurden 155 Myome von 96 Patientinnen zytogenetisch untersucht. Dabei zeigten 28% der Myome klonale Karyotypänderungen. Auf die drei Hauptkaryotypengruppen mit normalem Karyotyp, Aberrationen der Chromosomenregion 12q14-15 und Deletion des langen Arms von Chromosom 7 entfielen 72%, 12% und 8%. Die durchschnittliche Tumorgroße für die Gruppen ist Tabelle 3 zu entnehmen.

**Tab. 3:** Durchschnittliche Myom-Größe in den drei Hauptkaryotyp-Gruppen mit 12q14-15-Aberrationen, Deletionen des langen Arms von Chromosomen 7 und normalem Karyotyp

Karyotyp-Gruppe	durchschnittliche Größe [cm] $\pm$ Standardabweichung[cm]
-----------------	---

- 45 -

normaler Karyotyp	$3,4 \pm 2,1$
12q14-15 Aberrationen	$8,9 \pm 5,6$
Deletion des Chromosoms 7	$3,5 \pm 2,0$

Die Ergebnisse zeigen deutlich, daß das Auftreten von 12q14-15-Aberrationen, die molekulargenetisch mit Mutationen im oder im Bereich des HMGIC-Gens korrelieren, mit einer hochsignifikanten Größenzunahme der entsprechenden Myome einhergehen, wenn man sie entweder mit Myomen mit normalem Karyotyp oder mit Deletionen am langen Arm von Chromosom 7 vergleicht. Die Unterschiede werden nicht nur beim Vergleich der Mittelwerte, sondern auch der Verteilungen der Tumorgrößen der einzelnen Tumorgruppen, wie dargestellt in Fig.1, deutlich.

Zusammengefaßt führt offenkundig das Auftreten von Chromosomenaberrationen der Chromosomenregion 12q14-15, das mit der verstärkten Expression von HMGIC-Gen oder der Expression veränderter Transkripte dieses Gens einhergeht, zu einem verstärkten Tumorwachstum.

### Beispiel 2

Mutationen im Bereich des HMGIC- oder HMGIY-Gens manifestieren sich zytogenetisch durch Chromosomenaberrationen der Region 12q14-15 bzw. 6p21. Zumindest theoretisch ist aber durchaus denkbar, daß die zytogenetisch erkennbaren Aberrationen nur „die Spitze des Eisberges“ darstellen und ein wesentlich größerer Teil der Mutationen der beiden genannten Gene mit zytogenetisch nicht darstellbaren chromosomalen Umbauten einhergeht. Wäre dies der Fall, könnte es für eine Schlüsselrolle der genannten Aberrationen bei der Tumorentwicklung insgesamt im Sinne einer primären Mutation sprechen. Eine Methode zum Nachweis der „versteckten“ Umlagerungen ist die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). Es wurde an einer Serie von 40 Myomen mit anscheinend normalem Karyotyp FISH-Experimente durchgeführt, für die Cosmid- und PAC-Sonden eingesetzt wurden, die den Lokalisierungsort von HMGIC- bzw. HMGIY-Gen abdecken. Die Sonden wurden dabei so gewählt, daß ein Bereich von ca. 150 kb 5' bis 40 kb 3' vom HMGIC-Gen und von 30 kb 5' bis 40 kb 3' vom HMGIY-Gen abgedeckt wurde. Alle Myome wurden mit den Sonden für beide Gene untersucht; analysiert wurden jeweils mindestens 20 Metaphasen. In keinem Fall erga-

ben sich Hinweise auf mit Mitteln der konventionellen Zytogenetik nicht erkennbare, verdeckte chromosomale Umlagerungen der untersuchten Bereiche.

Berücksichtigt man die Häufigkeit der Myome ohne erkennbare zytogenetische Veränderungen (s. Beispiel 1) und die Ergebnisse der in diesem Beispiel dargestellten Untersuchungen, ist es wahrscheinlich, daß die Mutationen der Gene der HMGI(Y)-Familie bei der Mehrzahl der Uterus-Myome keine Schlüsselrolle spielt.

### Beispiel 3

Unabhängig davon, ob diese Veränderungen primär oder sekundär sind, wird als molekulargenetische Basis der 12q14-15- und 6p21-Aberrationen bei Uterus-Myomen angenommen, daß es durch die chromosomalen Umlagerungen zu einer Expression/verstärkten Expression oder einer Expression aberranter Transkripte des HMGIC-Gens bzw. HGMIIY-Gens kommt, die in normalem Uterus-Gewebe fehlt. Für das HMGIC-Gen ist mittels einer RT-PCR in normalem Uterus-Gewebe im Regelfall keine HMGIC-Genexpression nachweisbar. Es wurden mit dieser Methode 40 Myomgewebe mit anscheinend normalem Karyotyp untersucht. Ziel der Untersuchung war wiederum festzustellen, ob bei diesen Myomen, wie bei solchen mit 12q14-15-Veränderungen, Hinweise auf eine HMGIC-Genexpression zu finden seien.

Bei keinem dieser Myome waren Hinweise auf eine Expression zu finden, so daß auch aus diesen Ergebnissen darauf geschlossen werden kann, daß bei der Entstehung dieser Myome HMGIC-Genexpression nicht das primäre Ereignis ist.

### Beispiel 4

Für die Untersuchung der Wirkung von HMGIC auf den SV 40-Promotor werden zwei Vektorsysteme in eine Zelle transfektiert. Dies sind der Expressionsvektor H<sub>3</sub>H<sub>x</sub> für HMGIC und der „pGL3 Luciferase Reporter Vektor“ der Firma Promega. Das komplette „pGL3 Luciferase Reporter Vektor“-System von Promega umfaßt 4 verschiedene Vektoren, die es ermöglichen, DNA-Abschnitte hinsichtlich Promotor- oder Enhancer-Regionen zu untersuchen. Diese Vektoren sind in Fig. 2 dargestellt. Für die Untersuchung von Promotor-Abschnitten wird der Vektor „pGL3-Enhancer“ benötigt. Der Vektor „pGL3-Promotor“ ist für die Untersuchung von Enhancer-Elementen vorgesehen. Desweiteren wird der Vektor „pGL3-Promotor“ bei

diesem Versuch verwendet, um die Wirkungsweise von HMGIC auf einen SV40-Promotor bzw. Promotoren anderer Polyomaviren zu testen. Hierzu wird der Vektor H<sub>3</sub>H<sub>x</sub> mit dem Vektor „pGL3-Promotor“ kotransfiziert.

Der Vektor „pGL3-Control“ dient als Positivkontrolle für das System, eine Transfektion ausschließlich mit dem Vektor „pGL3-Promotor“ als Negativkontrolle.

Die einzelnen Vektoren haben abgesehen von Promotor- und Enhancer-Elementen die gleiche Grundstruktur. Sie verfügen über eine modifizierte Kodierungsregion für Feuerfliegen-Luciferase (*Photinus pyralis*) (*luc+*), welche für die Untersuchung der Transkriptionsaktivität in transfizierten eukaryotischen Zellen gewählt wurde. Desweiteren enthalten sie einen prokaryotischen Replikationsursprung zur Vermehrung in *E.coli*, ein Ampicillin-Resistenzgen für die Selektion, einen Replikationsursprung von filamentösen Phagen (*f1 ori*) für die Produktion einzelsträngiger DNA (ssDNA) und eine „multi cloning site“ (MCS) 3' und 5' des Luciferase-Gens.

Der „pGL3-Promotor“-Vektor ist 5010 Basenpaare groß und enthält im Gegensatz zum „pGL3-Enhancer“ einen SV40-Promotor und keinen Enhancer. DNA-Fragmente, die vermeintliche Enhancer-Sequenzen enthalten, können 3' oder 5' des Luciferase-Gens eingesetzt werden und so zu einer Verstärkung führen. Desweiteren kann der SV40-Promotor durch andere Polyomavirus-Promotoren ersetzt werden.

Der Vektor „pGL3-Control“ (5256 Basenpaare) enthält einen SV40 Promotor und eine Enhancer-Sequenz, was in den meisten Säugerzellen zu einer starken Expression von *luc+* führt. Dieser Vektor dient zur Kontrolle der Transfektionseffizienz und setzt den internen Standard für die Promotor- und Enhancer-Aktivität der anderen Vektoren.

Für die Untersuchung haben sich HeLa-Zellen als geeignet erwiesen, da sie sehr leicht zu handhaben sind, den Vorgang der Transfektion nahezu ohne Schaden überstehen und keine Expression von HMGIC aufweisen (das Nichtvorhandensein der HMGIC Expression wurde durch „Northern Blot“ nachgewiesen). Die Zellen werden für die Transfektion in Platten mit 6 Näpfen herangezogen.

Für den Vorgang der Transfektion wurden 2µg DNA mit Zellmedium (TC 199), ohne Kälberserum und Antibiotika, gemischt (beides kann die Komplexbildung stören), Endvolumen 100µl.

Zu dem DNA-Gemisch werden 10µl „SuperFect“ zugegeben. Nach dem Mischen inkubiert man 10 min bei Raumtemperatur, wobei sich Komplexe aus der DNA und dem „SuperFect“ bilden.

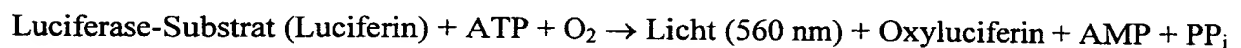
Während der Inkubation wird von den Zellen das alte Medium abgesaugt und die Zellen mit 1x PBS gespült. Das Gemisch aus „SuperFect“ und DNA wird mit 800µl Zellmedium mit 20% Kälberserum gemischt, welches anschließend auf die Zellen gegeben wird. Nach einer Inkubation (im Brutschrank bei 37°C und 6% CO<sub>2</sub>) von 16-18 Stunden wird frisches Medium (20%) zugegeben und weitere 8-32 Stunden inkubiert.

Die Auswertung des Versuches erfolgt mit dem „Luciferase Assay Kit“ von Stratagene (s.u.).

#### Luciferase-Extraktion und Bestimmung der Luciferase-Konzentration:

Nach der Inkubation der transfektierten Zellen wird das Medium abgesaugt und 500µl 1x Zellysepuffer zugegeben. Nach 15-minütiger Inkubation, bei Raumtemperatur auf einem Schüttler, lysieren die Zellen. Das Zellysate wird in Eppendorf-Cups überführt. Dieses ist für kurze Zeit bei 4°C lagerbar. Über längere Zeit kann es bei -80°C gelagert werden, hierbei geht jedoch bis zu 50% der Luciferase-Aktivität verloren.

Für die Bestimmung der Luciferasekonzentration werden 20µl Zellysate mit 100µl „Luciferase assay reagent“ (LSA) (beides sollte Raumtemperatur haben) gemischt. Das Luciferin im Reaktionsgemisch wird unter ATP Verbrauch umgesetzt, wobei Lichtquanten entstehen.



Die emittierten Lichtquanten können mit einer Photozelle eines Luminometers gemessen werden. Die ermittelten Werte werden in relativen Lichteinheiten (relative light units (RLU))

angegeben und vermitteln im Verhältnis zu anderen Werten Auskunft über die gebildete Menge an Luciferase.

#### Ergebnisse:

Bisher wurden zwei voneinander getrennte Meßreihen durchgeführt. Weitere Messungen, vor allen Dingen mit Promotorregionen der BK- und JCV-Viren können leicht vorgenommen werden, im vorliegenden Testsystem durch Klonierung der entsprechenden Promotorregionen in die Testvektoren.

Die Ergebnisse der ersten 2 Meßreihen sind in Tabelle 4 zusammengefaßt.

Tabelle 4: Ergebnisse der Transfektionsversuche

	Positiv- kontrolle	Negativ- kontrolle	1µg H <sub>3</sub> H <sub>x</sub> (1µg pGL3-P)	0,5.µg H <sub>3</sub> H <sub>x</sub> (1µg pGL3-P)	0,25µg H <sub>3</sub> H <sub>x</sub> (1µg pGL3-P)
relative Licht- einheiten 1. Versuch	14.500	1.800	4.300	8.800	3.800
relative Lichteinheiten 2. Versuch	15.100	2.100	5.100	9.400	4.800

Die Meßergebnisse liegen über denen der Negativkontrolle und unter denen der Positivkontrolle mit sehr starkem Promotor, was deutlich eine leichte Regulierung der virale Promotorregion durch HMGIC belegt.

Dies belegt die vorstehend beschriebene Beteiligung von Viren an der Entstehung von Leiomyomen, Endometriumpolypen und Endometriose.

Beispiel 5

In diesem Beispiel werden die Ergebnisse eines PCR-Tests dargestellt, der durchgeführt wurde, um nach Adenovirus-spezifischen DNA-Sequenzen in Myomgeweben zu suchen. Dabei stehen für alle 6 Subgenera der Adenoviren spezifische Oligonukleotide zur Amplifikation von viralen DNA-Sequenzen zur Verfügung.

Unter Anwendung des PureGene Kits (Fa. Gentra, deutscher Vertrieb Biozym) wurde DNA aus 16 Myomen, 6 Zellkulturen von Myomen, 1 Myometrium und 2 Blutproben isoliert.

DNAs von 8 Myomen, allen 6 Zellkulturen, des Myometriums und der Blutproben wurden in eine PCR eingesetzt. Verwendet wurden die Oligonukleotidpaare HsgA1 (SEQ: ID. No 1: aaggtgtcaatyatgtttg) /HsgA2 (SEQ ID.NO. 2: acggttacttkttt) und HsgB1 (SEQ ID No. 3: tctattccctacctggat) /HsgB2 (SEQ ID. No. 4: actcttaacggcagtag) aus der Sequenz des Hexon-Gens, die jeweils Adenovirus-DNA der Gruppe A bzw. B amplifizieren ( Pring-Akerblom et al., J. Med. Virol. 58, 87-92, 99). Das Oligonucleotidpaar HsgA amplifiziert ein Fragment von 299 bp, das Oligonucleotidpaar HsgB ein Fragment von 465 bp. Als Positivkontrollen wurden Virus-DNA Proben der Adenovirus Subgenera A (Ad18) und B (Ad7) verwendet, die von Frau Dr. Patricia Pring-Akerblom, Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Virologie und Seuchenhygiene, 30623 Hannover zur Verfügung gestellt wurden. Folgender PCR-Ansatz wurde verwendet:

500 ng DNA (Myome/Blut) bzw. 50 ng Virus-DNA

1.5 mM MgCl<sub>2</sub>

je 0.5 µM Primer

5 µl 10×PCR-Puffer ohne MgCl<sub>2</sub> (Sigma)

200 µM dNTP

2.5 U Taq-Polymerase (Sigma)

Jeder Ansatz enthielt 50 µl Gesamtvolumen. Folgende Zyklen wurden durchgeführt:

1× 6 min 95°C

40× 40 sec 92°C

30 sec 41°C



40 sec 72 °C  
1× 5 min 72°C

Der gesamte Ansatz wurde in einem 1-%igen Agarosegel aufgetragen.

Fig. 6 zeigt das Ergebnis der PCR-Analyse zur Prüfung auf mögliche DNA-Sequenzen von Adenoviren mit Konsensus-Primern der Gruppe B. Mit Ausnahme der Virus-Kontroll-DNA konnte mit Primerpaar HsgA keine Amplifikation des 299 bp-Fragmentes nachgewiesen werden. Mit Primerpaar HsgB wurde bei vier DNA-Fragmenten von Uterus-Leiomyomen (My178.1; My174.3; My174.4; My161.7) (Zellkultur und primäres Tumorgewebe) und der viralen Kontroll-DNA (humanes Adenovirus 7) eine Amplifikation des 465 bp-Fragmentes nachgewiesen. Weder aus Blut-DNA noch aus DNA aus normalem Myometrium aus einem Uterus myomatosus (My187.6) oder den untersuchten Lungen-Hamartomen (H) wurde ein entsprechendes Produkt amplifiziert. M5 bezeichnet einen Marker (DNA-Standard V, Roche, Penzberg), Pfeil: Lage des spezifischen 465bp-Fragmentes. Damit konnte eindeutig der Nachweis viraler DNA-Sequenzen des Adenovirus-Typ B in den Myomgeweben erbracht werden.

### Beispiel 6

Zur näheren Charakterisierung der PCR-Produkte wurden diese in einen geeigneten Vektor kloniert und aus dem Vektor von beiden Seiten sequenziert. Hierzu wurde ausgehend von den Ergebnissen der PCR-Analysen (siehe Beispiel 5) die dem 465 bp-Amplifikat entsprechende DNA (6 Fragmente aus 6 Myom-DNA-Proben und 1 Fragment aus der Virus-Kontroll-DNA Ad7) mit Hilfe des QIAEX II-Kits (Qiagen, Hilden, Deutschland) nach Herstellerangaben (QIAX II Handbook Ausgabe August 1996, S. 12-13) aus dem Agarose-Gel eluiert. Ferner wurde ein größeres Fragment, das aus der DNA My174.3 amplifiziert wurde (Vergl. Bsp. 5), eluiert. Im folgenden Schritt wurde die gereinigte DNA in den Vektor pGEM-T Easy (Promega, Madison, USA) nach Herstellerangaben (Technical Manual pGEM-T and pGEM-T Easy Vector Systems, S. 11) ligiert und das Vektorkonstrukt in *E.coli* kloniert (Technical Manual pGEM-T and pGEM-T Easy Vector Systems, S. 12-13). Plasmid-DNA positiver Bakterienklone wurde mit Hilfe des QIAprep-Kits (Qiagen, Hilden, Deutschland) nach Herstelleran-

gaben (QIAprep Miniprep Handbook Ausgabe April 1998, S. 18-19) isoliert. Die Sequenzierung der klonierten Inserts erfolgte unter Verwendung der Oligonukleotide M 13 universal und M 13 revers und mit Hilfe einer automatischen Sequenziereinheit (373 Applied Biosystems, Weiterstadt, Deutschland). Die vergleichende Analyse der Sequenzen erfolgte mit Hilfe der vom amerikanischen National Center for Biotechnology (NCBI) Information des National Institute of Health per Internet veröffentlichten Datenbanken (Zugang: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) und Suchmethoden (Advanced BLAST, Datenbank „nr“ ohne Angabe einer bestimmten Spezies).

Ergebnisse: Die amplifizierten Sequenzen aus allen Tumoren und Tumorzellkulturen entsprechen (mit einigen Abweichungen, siehe Abb. 3, Abb. 4 und Tabelle 5) dem 465 bp langen PCR-Fragment der Positivkontrolle. Die Sequenz, die bei der Analyse des größeren Fragment des Amplifikats aus My174.4 erhalten wurde, ergab in der vergleichenden Analyse keinen Match zu einer viralen Sequenz.

Tabelle 5

PCR – Produkt	Bester Match Zugangsnummer	Anzahl der Mutationen	Besonderheiten
M 3-3 (Kontrolle AD7)	AF065065	2	4xN, 2 Austauschmutationen
M 2-3 (Myom-DNA)	X765551	0	
M 5-1(Myom-DNA)	AF 065065	0	
M 6-1 (Myom-DNA)	AF 065068	1	Keine Austauschmutation
M 7-1 (Myom-DNA)	X765551	8	Keine Austauschmutation
M 8-2 (Myom-DNA)	X765551	10	1 Austauschmutation
M 9-2 (Myom-DNA)	AF065065	8	Keine Austauschmutation

Damit wurde gezeigt, daß die viralen Sequenzen, die aus den einzelnen Myomen amplifiziert wurden, der Sequenz des Adenovirus Typ 7 am ähnlichsten sind und untereinander an Hand von Punktmutationen unterschieden werden können.

## Erläuterungen zu Fig. 3a – c, Fig. 4a-b und Tabelle 5

Die vergleichende Analyse der DNA- und Proteinsequenzen ergab den Nachweis, einer hohen Homologie der aus den Myomengeweben amplifizierten Sequenzen zu veröffentlichten Sequenzen aus der Hexonregion des Adenovirus Typ 7. Die einzelnen DNA-Sequenzen weisen Punktmutationen auf und unterscheiden sich untereinander. Mit Ausnahme einer Punktmutation, die zu einem Aminosäureaustausch in der Proteinsequenz von M 8-2 führt, erweisen sich alle übrigen Mutationen als sogenannte stille Mutationen. Die Sequenzunterschiede sind jeweils in den Abbildungen Fig. 3a – c durch Kästchen markiert. Verwendete Nomenklatur: X765551, AF 065068, AF 65065: veröffentlichte Sequenzen adenoviraler Hexongene, M 3-3P: Positivkontrolle (siehe Beispiel 5), M 2-3, M 5-1, M 6-1, M7-1, M 8-2, M 9-2: verschiedene Sequenzen von Amplifikaten aus Myomgewebe.

Die Abbildung Fig. 4a – b zeigt eine vergleichende Analyse aller aus den verschiedenen Myomgeweben erhaltenen DNA-Sequenzen. Die Unterscheidungen sind durch Kästchen markiert. Die verwendete Nomenklatur entspricht derjenigen von Fig. 3 a-c

Beispiel 7

HMGI(Y)-Proteine können durch die Bindung an virale Promotoren die Expression von viralen Proteinen beeinflussen. Anhand der veröffentlichten Sequenz des Promotors des Gens E1a (Zugangsnummer X03000 oder NCBI-Datenbank; E1a ist ein adenovirales Gen, dessen Genprodukt eine transformierende Funktion zugeordnet wird) und mittels veröffentlichter Daten zur Bindungsmodalität von HMGI(Y) an DNA –Sequenzen (vgl. Yie et al., Molecular and Cellular Biology 17: 3649 – 3662, 1997) wurde überprüft, ob HMGI(Y) an die Promotorsequenz binden kann. Proteine der HMGI-Y Gruppe enthalten drei Bindungsdomains, von denen jeweils 2 parallel an DNA-Sequenzen, die aus einer Reihung von mindestens 4 Adeninen und Thyminen bestehen, binden können. Diese DNA-Sequenzen liegen idealerweise 10 oder 20 Basenpaare von einander entfernt, da die bindenden HMGI-Y Proteine auf Grund der Lage der Bindungsdomains 1-2 helikale Windungen der DNA umspannen können (Yie et al., Molecular and Cellular Biology, 17: 3649-3662, 1997). Binden HMGI-Y Proteine auf die beschriebene Weise an zelluläre oder virale Promotoren, so wird die Promoter-vermittelte Wirkung im Sinne einer Aktivierung oder Hemmung modifiziert. Mittels Sequenzvergleich

unter Verwendung der über NCBI veröffentlichten Datenbanken (siehe Beispiel 6) wurde die Promotersequenz des adenoviralen Proteins E1A identifiziert (Zugangsnummer X03000, Nukleotide 1-511, Quelle: AD7). An Hand der beschriebenen Kriterien wurden zahlreiche Bindungsstellen für HMGIY Proteine ermittelt (Vergl. Fig. 5). Exemplarisch sind zwei dieser identifizierten Bindungsstellen, die parallel durch zwei Bindungsdomänen eines HMGI-Y Proteins gebunden werden können, durch eine Klammer verbunden worden.

Hiermit wurde gezeigt, daß HMGI-Y Proteine an die Promotersequenz binden können.

### Beispiel 8

Es wurden anhand der über NCBI publizierten Sequenz des linken Endes von AD7 (Zugangsnummer X 03000) die Oligonucleotide ADE1Bgl2S: (SEQ ID. NO. 5): gaa gat ctt tat aga tgg aat ggt gcc aac at und ADE1Hi3AS (SEQ. ID. NO. 6): ccc aag ctt aaa act ctt ctc gct ggc agt c ausgewählt, die an die Promotersequenz des E1A-Gens des Adenovirus 7 binden können. Das Oligonucleotid ADE1Bgl2S enthält eine Bgl II-Schnittstelle und das Oligonucleotid ADE-Hi3AS enthält eine HindIII-Schnittstelle. Beide Schnittstellen sind in der oben angegebenen Sequenz unterstrichen. Unter der Verwendung der Oligonukleotide wurde ein 521bp langes Fragment aus der AD7-Promoter-Region amplifiziert und über die Schnittstellen BglI und HindIII mittels Standardmethoden (Maniatis) in den Luciferase-Reportervektor pGL3-Enhancer (Promega) kloniert (pAD7PROM). Als Template (Matrize) wurde die AD7-DNA, die bereits im Beispiel 5 als Positivkontrolle gedient hat, verwendet. Das amplifizierte Fragment fungiert dann als Promoter für das im Vektor vorhandene Firefly-Luciferase-Gen, dessen Aktivität durch ein Luciferase-Assay (Dual-Luciferase-Reporter-Assay-System, Promega) meßbar ist. Die Co-Transfektion des o.g. Konstruktes mit einem HMGIC-Expressionsvektor (H3HX) sowohl in Hela-Zellen als auch in primäre Myometrium-Zellen aus der 1. Passage der Gewebekultur erbrachte den Nachweis einer Modifizierung der E1A-Promotorfunktion durch HMGIC. Alle Transfektionen wurden mit dem Superfect nach dem Protokoll der Firma Qiagen durchgeführt. In Abänderung zum Original-Protokoll wurde jeweils 1 µg der jeweiligen Konstrukte verwendet und die Zellen wurden nicht mit PBS gewaschen. Die Inkubation wurde von wenigen Stunden auf eine Über-Nacht-Inkubation verlängert und nach dieser wurde das Superfekt nicht abgenommen, sondern 3 mL Medium zu den Kulturen gegeben. Damit

wurde gezeigt, daß die Expression des transformierenden adenoviralen Proteins E1A durch die Bindung von HMGIC-Proteinen in der viralen Promoter-Region beeinflusst wird. Als Negativ-Kontrollen wurden zwei weitere Co-Transfektionen durchgeführt, wobei einmal der Expressionsvektor keine klonierte *HMGIC*-Sequenz enthielt und zusätzlich wurde transfektiert ohne Zugabe des *HMGIC*-Expressionkonstrukts. Als Positiv-Kontrolle diente der pGL3-Kontroll-Vektor, der einen SV40-Promoter und SV40-Enhancer enthält. Um Ungenauigkeiten bei der Zellkultur auszuschließen, wie z.B. unterschiedliche Anzahl der Zellen pro Zellkulturschale, unterschiedliche Effizienz bei Transfektion und Zell-Lysis, wird die Aktivität des experimentellen Reporterkonstrukts (s.o.) durch Co-Transfektion mit einem internen pRL-Kontroll-Vektor (pRL-TK, Renilla-Luciferase) normalisiert. Die Durchführung der Luciferase-Messungen erfolgte nach dem Protokoll des "Dual-Luciferase-Reporter-Assay-System" von Promega.

#### Beispiel 9

Ein weiteres Beispiel für die Induktion von Gewebeveränderungen durch die Infektion der Gewebezellen mit Adenoviren sind die Lungenhamartome. Dieses Beispiel beschreibt die Strategie zur Überprüfung und zum Nachweis von adenoviralen Genomen in verschiedenen Lungenhamartomgeweben.

Unter Anwendung des PureGene Kits (Fa. Gentra, deutscher Vertrieb Biozym) wurde DNA aus 10 Zellkulturen von Hamartomen isoliert.

DNAs von 7 Zellkulturen wurden in eine PCR eingesetzt. Verwendet wurden die Oligonukleotidpaare HsgA1/HsgA2, HsgB1/HsgB2, HsgC1 [(SEQ. ID. NO. 7): acctttgactcttctgt]/HsgC2 [(SEQ. ID.NO 8): tccttgatttagtattc], HsgD1 [(SEQ.ID.NO. 9): ccattcatgttcgactcct]/HsgD2 [(SEQ: ID.No. 10): aggtagccgggtgaagcc], HsgE1 [(SEQ: ID: NO.11): gactcttcgctcagctgg]/HsgE2 [(SEQ: ID: NO. 12): gctggtaacggcgctct] und HsgF1 [(SEQ. ID. No. 13): atttctattccttcgcg] /HsgF2 [(SEQ: ID. No.14): tcaggcttggtacggcc], aus der Sequenz des Hexon-Gens, die jeweils Adenovirus-DNA der Gruppen A bis F amplifizieren (Pring-Akerblom et al., J. Med. Virol. 58, 87-92, 99). Oligonukleotidpaar HsgA amplifiziert ein Fragment von 299 bp, Oligonukleotidpaar HsgC von 269 bp, Oligonukleotidpaar HsgD von

331 bp, Oligonukleotidpaar HsgE von 399 bp und Oligonukleotidpaar HsgF von 586 bp. Die als Kontrolle verwendeten Virus-DNA-Proben wurden ebenfalls von Frau Dr. Pring-Akerbloom zur Verfügung gestellt (vergl. Beispiel 5: Subgenus A: Ad18, Subgenus B: Ad7, Subgenus C: Ad1, Subgenus D: Ad17:, Subgenus E: Ad4:, Subgenus F: Ad41)

Folgender PCR-Ansatz wurde verwendet:

500 ng DNA (Gewebe, Zellkultur) bzw. 50 ng Virus-DNA

1.5 mM MgCl<sub>2</sub>

je 0.5 µM Primer

5 µl 10×PCR-Puffer ohne MgCl<sub>2</sub> (Sigma)

200 µM dNTP

2.5 U Taq-Polymerase (Sigma)

Jeder Ansatz enthielt 50 µl Gesamtvolumen. Folgende Zyklen wurden durchgeführt:

1× 6 min 95°C

40× 40 sec 92°C

30 sec 41°C

40 sec 72 °C

1× 5 min 72°C

Der gesamte Ansatz wurde in einem 1,5%igen Agarosegel aufgetragen. Mit den Oligonukleotidpaaren HsgA1/HsgA2, HsgB1/HsgB2, HsgC1/HsgC2 und HsgF1/HsgF2 wurde kein Fragment der jeweils erwarteten Länge aus den verschiedenen Lungenharmartom-DNA-Proben amplifiziert werden, wobei das entsprechende Fragment aus der viralen Kontroll-DNA amplifiziert wurde. Aus den DNA-Proben von 3 Lungenhamartomen wurde mit den Oligonucleotiden HsgD1/HsgD2 ein 331 bp Fragment amplifiziert. Aus 4 weiteren Lungenhamartom-DNA-Proben wurde mit dem Oligonucleotidpaar HsgF1/HsgF2 ein 399 bp langes Produkt amplifiziert.

Damit wurde eindeutig gezeigt, daß eine Infektion der Ursprungszelle mit Adenoviren der Gruppe D oder E zur Bildung von Lungenhamartomen führt.

### Beispiel 10

Um zu prüfen, ob Zellen von Lungenhamartomen in vitro permissiv sein können, wurden Hela-Zellen mit Zellen eines Lungenhamartoms kokultiviert. Hela-Zellen werden häufig für die Vermehrung von Adenoviren benutzt und zeigen nach Infektion cytopathologische Effekte.

Das verwendete Hamartomgewebe stammte von einem Tumor mit einer chromosomalen Translokation t(6;14)(p21;q24). Er wurde nach der Operation für 26 Stunden in Hank's Lösung bei Raumtemperatur gelagert und dann mit Schere und Skalpell in ca. 1 mm<sup>3</sup> große Würfel zerkleinert. Nach Routinemethoden erfolgte dann enzymatisch die weitere Zerkleinerung mit Kollagenase (Kazmierczak et al., Oncogene, 12: 515 – 521). Die resultierende Zellsuspension wurde auf vier 25 cm<sup>2</sup> Zellkulturflaschen verteilt, die jeweils mit 5 ml Zellkulturmedium (Medium 199 mit 20 % fetalem Kälberserum unter Zusatz von Antibiotika) vorgefüllt waren. Nach dreitägiger Kultivierungsdauer bei 3°C, 5 % CO<sub>2</sub> hatte sich in den Flaschen ein konfluenter Monolayer gebildet. Die Zellen wurden daraufhin nach Standardverfahren mit Trypsin/EDTA-Lösung abgelöst und jeweils auf zwei neue Kulturflaschen verteilt. Nach zwei Stunden wurden zu den Kulturflaschen jeweils ca. 3x10<sup>5</sup> Hela-Zellen in 1 ml Kulturmedium gegeben. Nach eintägiger Kulturdauer enthielten die Flaschen je etwa 50 % von Hela-Zellen und fibroblastenartigen Hamartom-Zellen. Die Serumkonzentration im Medium wurde auf 10 % reduziert. Nach zwei weiteren Tagen zeigten die Hela-Zellen an mehreren Stellen Veränderungen der Zellmorphologie und begannen sich elipsenartige Zellen vom Boden der Kulturgefäße abzulösen. Nach vier Tagen waren nur noch einzelne Gruppen von Hela-Zellen nachzuweisen, die allerdings proliferierten.

Der aufgetretene cytopathologische Effekt kann auf für Adenoviren permissive Hamartomzellen zurückgeführt werden, die Hela-Zellen infiziert haben.

### Beispiel 11

Unter der Annahme daß, eine Aktivierung von Genen der HMGI(Y)-Familie bzw. deren erhöhte Expression zu einem verstärkten Wachstum Adenovirus-transformierter Zellen führt, wurde zur Abklärung das folgende Experiment durchgeführt:

Eine Hamsterzelllinie, die ein einzelnes Integrat des menschlichen Adenovirus im Genom aufweist, wurde als Empfänger für das Transfektionsexperiment benutzt. In den Zellen wurde mittels eines Expressionsvektors für das „Wildtyp“-HMGIC, wie in Beispiel 4 beschrieben, das HMGIC-Gen transient überexprimiert. Mit „leerem“ Vektor transfizierte Zellen dienten als Negativkontrolle. In den Ansätzen wurden 12 Stunden, 24 Stunden und 36 Stunden nach Transfektion die Zellzahlen bestimmt. Während nach 12 Stunden noch keine Unterschiede zwischen den Kulturen deutlich wurden, wiesen die Kulturen mit Überexpression des HMGIC nach 24 und 36 Stunden gegenüber den Kontrollkulturen durchschnittlich um den Faktor 1,2 bzw. 1,47 erhöhte Zellzahlen auf. Diese Transfektionsexperimente zeigen damit den Wachstumsvorteil auf, der durch Überexpression von HMGIC in Adenovirus-transformierten Zellen vermittelt wird und bestätigt somit die obige Auffassung, daß adenoviral transformierte Zellen bei Aktivierung von Genen der HMGI(Y)-Familie ein verstärktes Wachstum zeigen.

### Beispiel 12

Zur Untersuchung von Endometrioseherden auf das Vorkommen von Adenovirus der Gruppe B, die auch bei Uterus-Leiomyomen nachgewiesen werden konnten, wurden sofort nach Operation Gewebeproben von makroskopisch identifizierten Endometrioseherden von 4 Patientinnen in flüssigen Stickstoff eingefroren. Aus den eingefrorenen Proben wurde dann nach üblichen Methoden DNA isoliert. Diese DNA wurde für die in Beispiel 5 beschriebene PCR-Analyse eingesetzt. In 2 der analysierten Proben fand sich eine Amplifikation des für Adenoviren der Gruppe B typischen 465bp großen Fragments. Aus den Ergebnissen einer Verdünnungsreihe, bei der Virus-Kontroll-DNA aus Myometrium, bei der keine Amplifikation nachgewiesen werden konnte, gemischt wurde, konnte gezeigt werden, daß mit der Methode nur mehr als durchschnittlich 2 Virusgenome pro Wirtszelle nachgewiesen werden können. Aus den Ergebnissen der hier dargestellten Analyse läßt sich also feststellen, daß im Fall der zwei positiven Proben durchschnittlich mehr als 2 Virusgenome pro Zelle vorliegen müssen.



Beispiel 13

Zur Untersuchung von Endometriumpolypen auf das Vorkommen von Adenovirus der Gruppe B, die auch bei Uterus-Leiomyomen nachgewiesen werden konnten, wurden sofort nach Operation Gewebeproben von makroskopisch identifizierten Endometriumpolypen von 3 Patientinnen in flüssigen Stickstoff eingefroren. Aus den eingefrorenen Proben wurde dann nach üblichen Methoden DNA isoliert. Diese DNA wurde für die in Beispiel 5 beschriebene PCR-Analyse eingesetzt. In einer der analysierten Proben fand sich eine Amplifikation des für Adenoviren der Gruppe B typischen 465bp großen Fragments. Aus den Ergebnissen einer Verdünnungsreihe, bei der Virus-Kontroll-DNA mit DNA aus Myometrium, bei der keine Amplifikation nachgewiesen werden konnte, gemischt wurde, konnte gezeigt werden, daß mit der Methode nur mehr als durchschnittlich 2 Virusgenome pro Wirtszelle nachgewiesen werden können. Aus den Ergebnissen der hier dargestellten Analyse läßt sich also feststellen, daß im Fall der positiven Probe durchschnittlich mehr als 2 Virusgenome pro Zelle vorliegen müssen.

Die in der vorstehenden Beschreibung, den Ansprüchen sowie den Zeichnungen offenbarten Merkmale der Erfindung können sowohl einzeln als auch in beliebigen Kombinationen für die Verwirklichung der Erfindung in ihren verschiedenen Ausführungsformen wesentlich sein.

Ansprüche

1. Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung Gewebe mesenchymalen Ursprungs oder davon abgeleitete Gewebeveränderungen umfaßt und das Mittel ein antiviral wirksames Agens umfaßt.
2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Mittel wirksam ist gegen ein Virus, dessen Nukleinsäure mindestens eine Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivate umfaßt.
3. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Mittel wirksam ist gegen ein Virus, dessen Nukleinsäure für ein Genprodukt codiert, wobei dieses Genprodukt mindestens mit einem Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivaten wechselwirkt.
4. Mittel nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsstelle auf der Nukleinsäure des Virus das Struktur- und Sequenzmerkmal einer ersten AT-reichen Sequenz umfaßt.
5. Mittel nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsstelle auf der Nukleinsäure des Virus neben der ersten Sequenz noch die Struktur- und Sequenzmerkmale umfaßt, daß
  - eine zweite AT-reiche Sequenz vorhanden ist, und
  - die erste und zweite Sequenz in einer räumlichen Distanz zueinander angeordnet sind.
6. Mittel nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die räumliche Distanz so ausgewählt ist, daß die erste Sequenz und die zweite Sequenz relativ zueinander in einer Ebene auf der Nukleinsäure angeordnet sind.

7. Mittel nach einem der Ansprüche 1-6, dadurch gekennzeichnet, daß die Gene der HMGI(Y)-Familie MAG-Gene, HMGIC, HMGIY, aberrante Transkripte von Genen der HMGI(Y)-Familie und Derivate davon umfassen.
8. Mittel nach einem der Ansprüche 1-7, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewebe mesenchymalen Ursprungs zumindest teilweise mit einem Virus infiziert ist.
9. Mittel nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Virus ein solches nach einem der vorangehenden Ansprüche ist.
10. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß das Mittel wirksam ist gegen ein Virus aus der Gruppe der DNA-Viren, und insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren.
11. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das Gewebe mesenchymalen Ursprungs zumindest teilweise mit einem Virus aus der Gruppe der DNA-Viren, und insbesondere mit Adenovirus und/oder Herpesvirus infiziert ist.
12. Mittel nach einem der Ansprüche 1-11, dadurch gekennzeichnet, daß die Gewebeveränderung als ausschließlichen oder obligaten Bestandteil Gewebe umfaßt, wobei wenigstens einige der das Gewebe aufbauenden Zellen mit einem Virus nach einem der vorangehenden Ansprüche infiziert sind.
13. Mittel nach einem der Ansprüche 1-12, dadurch gekennzeichnet, daß die Gewebeveränderung eine Proliferation mindestens einer mesenchymalen Zelle, die mit einem Virus nach einem der vorangehenden Ansprüche infiziert ist, umfaßt.
14. Mittel nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Proliferation eine klonale Proliferation ist.

15. Mittel nach einem der Ansprüche 1-14, dadurch gekennzeichnet, daß die Gewebeproliferation eine epitheliale Komponente umfaßt.
16. Mittel nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß die epitheliale Komponente mindestens eine Zelle aufweist, die mit einem Virus nach einem der vorangehenden Ansprüche infiziert ist.
17. Mittel nach einem der Ansprüche 1-16, dadurch gekennzeichnet, daß die mit einem Virus nach einem der vorangehenden Ansprüche infizierte Zelle eine chromosomale Veränderung aufweist.
18. Mittel nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß die chromosomale Veränderung mindestens ein HMGI(Y)-Gen der infizierten Zelle umfaßt.
19. Mittel nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß das HMGI(Y)-Gen aus der Gruppe ausgewählt ist, die MAG-Gene, HMGIC, HMGIY, aberrante Transkripte von Genen der HMGI(Y)-Familie und Derivate davon umfaßt.
20. Mittel nach einem der Ansprüche 1-19, dadurch gekennzeichnet, daß die Gewebeveränderung ausgewählt ist aus der Gruppe, die Leiomyome, insbesondere Leiomyome des Uterus; Endometriumpolypen; Endometriose; Fibroadenome, insbesondere Fibroadenome der Mamma; Phyllodes-Tumoren, insbesondere der Mamma; Hamartome, insbesondere der Mamma; Prostata-Adenome; Lipome; aggressive Angiomyxome; Enchondrome; pleomorphe Adenomen, insbesondere der Kopfspeicheldrüsen; Kolon-Polypen, insbesondere Kolon-Adenome; Hamartome, insbesondere der Lunge; Atherome und daraus entstandene Karzinome umfaßt.
21. Mittel nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß die entstandenen Karzinome aus der Gruppe ausgewählt sind, die Kolon-Karzinome und Prostata-Karzinome umfaßt.

22. Mittel nach einem der Ansprüche 1-21, dadurch gekennzeichnet, daß das Virus ausgewählt ist aus der Gruppe, die DNA-Viren, und insbesondere Adenoviren und Herpesviren, umfaßt.

23. Mittel nach einem der Ansprüche 10 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäure des Virus mindestens eine Bindungsstelle für ein Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familien oder deren Derivate umfaßt.

24. Mittel nach einem der Ansprüche 10 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäure des Virus für mindestens ein Genprodukt codiert, wobei dieses Genprodukt mindestens mit einem Genprodukt von Genen der HMGI(Y)-Familie oder deren Derivaten wechselwirkt.

25. Mittel nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsstelle auf der Nukleinsäure des Virus das Struktur- und Sequenzmerkmal einer ersten AT-reichen Sequenz umfaßt.

26. Mittel nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß die Bindungsstelle auf der Nukleinsäure des Virus neben der ersten Sequenz noch die Struktur- und Sequenzmerkmale umfaßt, daß

- eine zweite AT-reiche Sequenz vorhanden ist, und

- die erste und zweite Sequenz in einer räumlichen Distanz zueinander angeordnet sind.

27. Mittel nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß die räumliche Distanz so ausgewählt ist, daß die erste Sequenz und die zweite Sequenz relativ zueinander in einer Ebene auf der Nukleinsäure angeordnet sind.

28. Mittel nach einem der Ansprüche 23 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß die Gene der HMGI(Y)-Familie MAG-Gene, HMGIC, HMGIY, aberrante Transkripte von Genen der HMGI(Y)-Familie und Derivate davon umfassen.
29. Mittel nach einem der Ansprüche 1 bis 28, dadurch gekennzeichnet, daß das Agens ausgewählt ist aus der Gruppe, die Impfstoffe; Antikörper; Mittel, die die Replikation, Transkription oder Translation viraler, insbesondere Gene der Adenoviren und/oder Herpesviren hemmen; Mittel, die mit Viren, insbesondere Adenoviren und/oder Herpesviren, infizierte Zellen erkennen und/oder zerstören; und Mittel, die durch ihre Effektorzellen-stimulierende Wirkung eine antivirale Wirkung erzielen, umfaßt.
30. Mittel nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß der Impfstoff einen Antikörper umfaßt, der gegen das Virus nach einem der vorangehenden Ansprüche oder einen Teil davon gerichtet ist.
31. Mittel nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß der Impfstoff ein Partikel eines Virus nach einem der vorangehenden Ansprüche oder einen Teil davon umfaßt.
32. Mittel nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, daß der Antikörper ausgewählt ist aus der Gruppe, die monoklonale Antikörper, polyklonale Antikörper, polyvalente Antikörper, Antikörperfragmente und Derivate davon umfaßt.
33. Verwendung eines Mittels nach einem der Ansprüche 29 bis 32 zur Immunisierung gegen Viren, die mit der Pathogenese und/oder Ätiologie der Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche verbunden sind.
34. Verwendung des Mittels nach einem der Ansprüche 1-33 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung umfassend das Mittel nach einem der vorangehenden Ansprüche und einen pharmazeutisch akzeptablen Träger zur Prävention und/oder Behandlung der Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche oder zur Immunisierung

gegen die Viren, die mit der Pathogenese und/oder Ätiologie der Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche verbunden sind.

35. Verwendung nach Anspruch 33 oder 34, dadurch gekennzeichnet, daß die Immunisierung eine aktive Immunisierung ist.

36. Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche geeigneter Viren und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das Mittel nach einem der vorangehenden Ansprüche gerichtet ist, welches die Schritte umfaßt:

- a) Transfektion einer Zellkultur mit normalem Karyotyp, die abgeleitet ist von einem Gewebe, das die Gewebeveränderung nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt, mit einem Expressionsvektor für ein Gen der HMGI(Y)-Familie oder dessen Derivat,
- b) Vergleich des RNA-Musters der transfizierten Zellen mit demjenigen von Kontrollkulturen, und
- c) Überprüfen von in den transfizierten Kulturen gegenüber Kontrollkulturen exprimierten oder verstärkt exprimierten RNA(s) durch Sequenzhomologie auf das Vorhandensein viraler Elemente.

37. Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche geeigneter Viren und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das Mittel nach einem der vorangehenden Ansprüche gerichtet ist, welches die Durchführung eines PCR-Tests umfaßt, wobei die für die PCR verwendeten Primer(paare) der Sequenz viraler Nukleinsäure entsprechen.

38. Verfahren zum Ermitteln von zur Herstellung eines Mittels zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche geeigneter Viren und/oder zum Ermitteln von Viren, gegen die das Mittel nach einem der vorangehenden Ansprüche gerichtet ist, welches die Schritte umfaßt:

- a) Anlegen einer cDNA-Bibliothek von einem Gewebe, das die Gewebeveränderung nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt, das eine Aktivierung eines Gens der HMGI(Y)-Familie oder eines Derivates aufweist oder aufweisen kann, und
- b) Screenen der cDNA-Bibliothek mit einer virusspezifischen Sonde oder
- c) Analyse der cDNA-Klone auf virale Sequenzen oder
- d) Vergleich mit einer cDNA-Bibliothek aus normalem Vergleichsgewebe.

39. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 38, dadurch gekennzeichnet, daß das Gen der HMGI(Y)-Familie ausgewählt ist aus der Gruppe, die HMGIC, HMGIY, MAG, aberrante Transkripte der Gene der HMGI(Y)-Familie und Derivate davon umfaßt.

40. Verfahren nach einem der Ansprüche 36 bis 39, dadurch gekennzeichnet, daß das Virus, das virale Element oder die virusspezifische Sonde aus der Gruppe von Viren ausgewählt ist, die die Viren nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt.

41. Verwendung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 36 bis 40 zum Ermitteln von Viren, gegen die zur Prävention und/oder Behandlung von Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche immunisiert werden kann.

42. Vorrichtung zur Bestimmung eines an der Pathogenese von Gewebeveränderungen nach einem der vorangehenden Ansprüche beteiligten Virus, welche ein Genprodukt von Genen



der HGMI(Y)-Familie oder einen Teil davon oder dessen Derivate umfaßt, das/der an einen Träger gebunden ist.

43. Vorrichtung nach Anspruch 42, dadurch gekennzeichnet, daß die virale Nukleinsäure neben der ersten Sequenz noch die Struktur- und Sequenzmerkmale umfaßt, daß

- eine zweite AT-reiche Sequenz vorhanden ist und

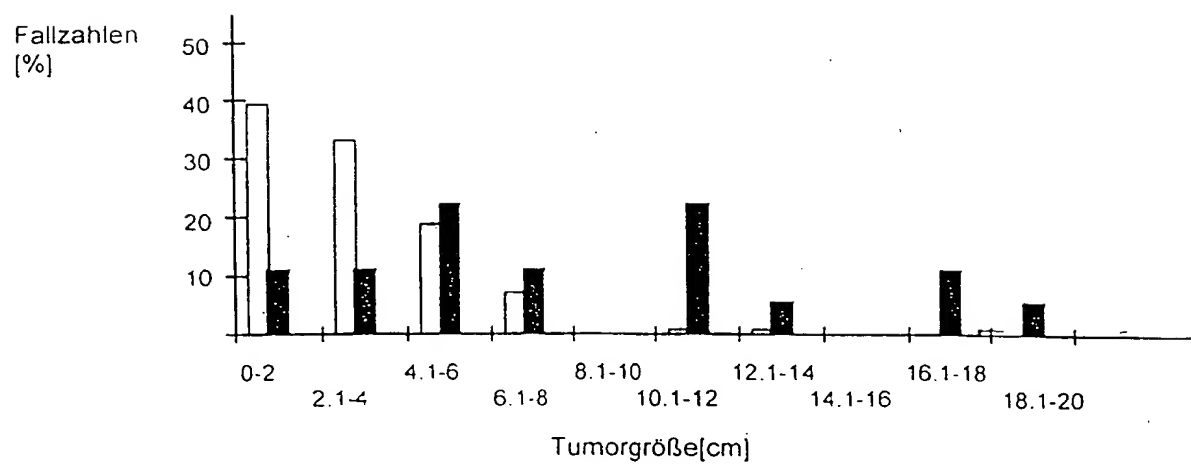
- die erste Sequenz und zweite Sequenz in einer räumlichen Distanz zueinander angeordnet sind.

44. Vorrichtung nach Anspruch 43, dadurch gekennzeichnet, daß die räumliche Distanz so ausgewählt ist, daß die erste Sequenz und die zweite Sequenz relativ zueinander in einer Ebene auf der Nukleinsäure angeordnet sind.

45. Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine solche Gewebeveränderung nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt, dadurch gekennzeichnet, daß eine Körperflüssigkeit von einem eine derartige Gewebeveränderung möglicherweise aufweisenden Patienten auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen Viren, wie beschrieben in einem der vorangehenden Ansprüche, bevorzugterweise DNA-Viren und ganz bevorzugterweise Adenoviren und/oder Herpesviren, untersucht wird.

46. Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine solche Gewebeveränderung nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt, dadurch gekennzeichnet, daß eine Körperflüssigkeit von einem eine derartige Gewebeveränderung möglicherweise aufweisenden Patienten auf das Vorhandensein von Antigenen von Viren, wie beschrieben in einem der vorangehenden Ansprüche, bevorzugterweise von DNA-Viren und ganz bevorzugterweise von Adenoviren und Herpesviren, untersucht wird.

47. Verfahren zur Diagnose einer Gewebeveränderung, wobei die Gewebeveränderung eine solche Gewebeveränderung nach einem der vorangehenden Ansprüche umfaßt, dadurch gekennzeichnet, daß eine Gewebeprobe mit einem Mittel umgesetzt wird, das aus der Gruppe ausgewählt ist, die Antikörper, die mit Viren, wie beschrieben in einem der vorangehenden Ansprüche, bevorzugterweise DNA-Viren und ganz bevorzugterweise Adenoviren und/oder Herpesviren, oder Teilen davon reagieren; Antigene, die von Viren, wie beschrieben in einem der vorangehenden Ansprüche, bevorzugterweise DNA-Viren und ganz bevorzugterweise Adenoviren und/oder Herpesviren, oder Teilen davon stammen, und Nukleinsäure, die mit Nukleinsäure von Viren, wie beschrieben in einem der vorangehenden Ansprüche, bevorzugterweise DNA-Viren, und ganz bevorzugterweise Adenoviren und/oder Herpesviren, wechselwirkt, umfaßt, im Falle der Anwesenheit von Viren, wie beschrieben in einem der vorangehenden Ansprüche, bevorzugterweise DNA-Viren und ganz bevorzugterweise Adenoviren und/oder Herpesviren, sich ein Komplex aus dem Mittel und dem Virus bildet und der Komplex nachgewiesen wird.



F I G . 1

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

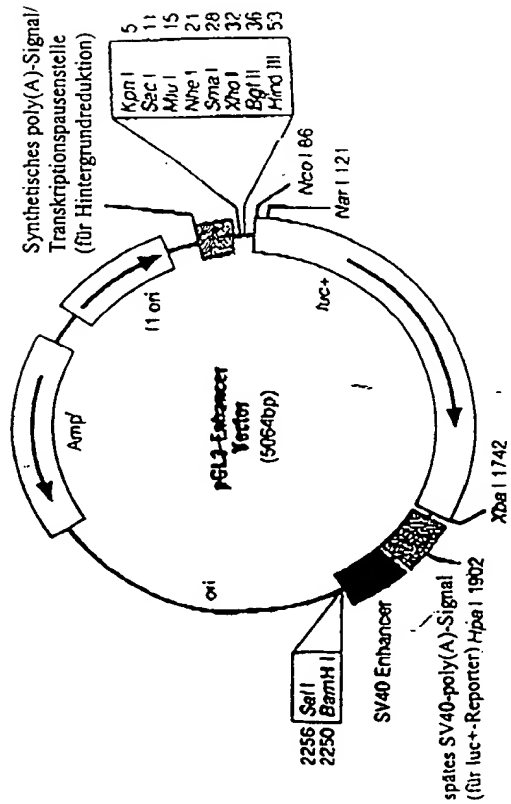
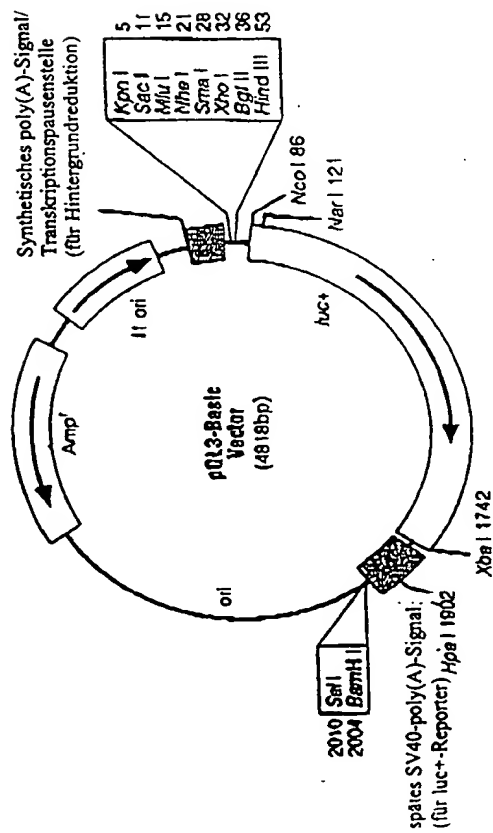
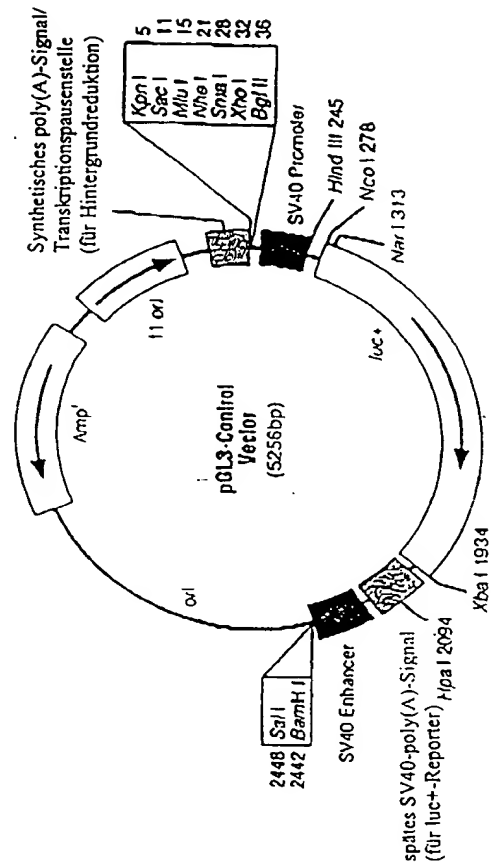
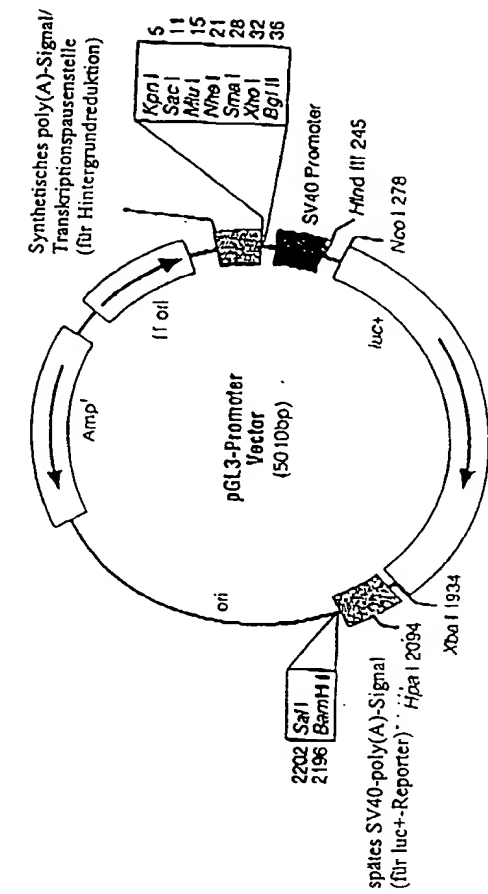


FIG. 2

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

1 GGCACCTTTTACCTTAACCAACACTTTTCAAGAAAGGTCCTCA X765551Ko.seq  
1 GGCACCTTTTACCTTAACCAACACTTTTCAAGAAAGGTCCTCA M2-3s.seq  
1 GGCACCTTTTACCTTAACCAACACTTTTCAAGAAAGGTCCTCA M7-1s.seq  
1 GGCACCTTTTACCTTAACCAACACTTTTCAAGAAAGGTCCTCA M8-2s.seq  
  
41 TCATGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAG X765551Ko.seq  
41 TCATGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAG M2-3s.seq  
41 TCATGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAG M7-1s.seq  
41 TCATGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAG M8-2s.seq  
  
81 GCTGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAG X765551Ko.seq  
81 GCTGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAG M2-3s.seq  
81 GCTGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAG M7-1s.seq  
81 GCTGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAG M8-2s.seq  
  
121 GACGGGGGAAGGGTACCAATGTGGCCCAATGTAAACATGACCA X765551Ko.seq  
121 GACGGGGGAAGGGTACCAATGTGGCCCAATGTAAACATGACCA M2-3s.seq  
121 GACGGGGGAAGGGTACCAATGTGGCCCAATGTAAACATGACCA M7-1s.seq  
121 GACGGGGGAAGGGTACCAATGTGGCCCAATGTAAACATGACCA M8-2s.seq  
  
161 AAGACTTGGTTCTGGTTTCAAGATGTTTGGCTTAACTACAAACAT X765551Ko.seq  
161 AAGACTTGGTTCTGGTTTCAAGATGTTTGGCTTAACTACAAACAT M2-3s.seq  
161 AAGACTTGGTTCTGGTTTCAAGATGTTTGGCTTAACTACAAACAT M7-1s.seq  
161 AAGACTTGGTTCTGGTTTCAAGATGTTTGGCTTAACTACAAACAT M8-2s.seq  
  
201 TGGCTTACCAAGGGCTTTTACATCCTTGAGGGATACAAAGGAT X765551Ko.seq  
201 TGGCTTACCAAGGGCTTTTACATCCTTGAGGGATACAAAGGAT M2-3s.seq  
201 TGGCTTACCAAGGGCTTTTACATCCTTGAGGGATACAAAGGAT M7-1s.seq  
201 TGGCTTACCAAGGGCTTTTACATCCTTGAGGGATACAAAGGAT M8-2s.seq  
  
241 CGCATGTACTCTCTTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCA X765551Ko.seq  
241 CGCATGTACTCTCTTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCA M2-3s.seq  
241 CGCATGTACTCTCTTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCA M7-1s.seq  
241 CGCATGTACTCTCTTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCA M8-2s.seq  
  
281 GGCAGGTGGTTGATGAGGTTTAAATTACACTGACTACAAAGC X765551Ko.seq  
281 GGCAGGTGGTTGATGAGGTTTAAATTACACTGACTACAAAGC M2-3s.seq  
281 GGCAGGTGGTTGATGAGGTTTAAATTACACTGACTACAAAGC M7-1s.seq  
281 GGCAGGTGGTTGATGAGGTTTAAATTACACTGACTACAAAGC M8-2s.seq  
  
321 CGTCAACCTTACCATACCAACACAAACAACTCTGGCTTTGTA X765551Ko.seq  
321 CGTCAACCTTACCATACCAACACAAACAACTCTGGCTTTGTA M2-3s.seq  
321 CGTCAACCTTACCATACCAACACAAACAACTCTGGCTTTGTA M7-1s.seq  
321 CGTCAACCTTACCATACCAACACAAACAACTCTGGCTTTGTA M8-2s.seq  
  
361 GGGTATCTTGGACCTACTATGAGACAAGGGGAACCTTACC X765551Ko.seq  
361 GGGTATCTTGGACCTACTATGAGACAAGGGGAACCTTACC M2-3s.seq  
361 GGGTATCTTGGACCTACTATGAGACAAGGGGAACCTTACC M7-1s.seq  
361 GGGTATCTTGGACCTACTATGAGACAAGGGGAACCTTACC M8-2s.seq  
  
401 CAGCCCAATTATCCATACCCGGCTCATCGGAA X765551Ko.seq  
401 CAGCCCAATTATCCATACCCGGCTCATCGGAA M2-3s.seq  
401 CAGCCCAATTATCCATACCCGGCTCATCGGAA M7-1s.seq  
401 CAGCCCAATTATCCATACCCGGCTCATCGGAA M8-2s.seq

Decoration 'Decoration #1': Box residues that differ from X765551Ko.seq.

a

1 GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV X765551Prot.PRO  
1 GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV M2-3s.PRO  
1 GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV M7-1s.PRO  
1 GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV M8-2s.PRO  
  
41 DGE GYNVAQC NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGIFYIPEGYKD X765551Prot.PRO  
41 DGE GYNVAQC NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGIFYIPEGYKD M2-3s.PRO  
41 DGE GYNVAQC NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGIFYIPEGYKD M7-1s.PRO  
41 DGE GYNVAQC NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGIFYIPEGYKD M8-2s.PRO  
  
81 RMY SFFRN FQ PMSRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNN SGFV X765551Prot.PRO  
81 RMY SFFRN FQ PMSRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNN SGFV M2-3s.PRO  
81 RMY SFFRN FQ PMSRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNN SGFV M7-1s.PRO  
81 RMY SFFRN FQ PMSRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNN SGFV M8-2s.PRO  
  
121 GYLAPTMRQGEPPY PANYPYPLIG X765551Prot.PRO  
121 GYLAPTMRQGEPPY PANYPYPLIG M2-3s.PRO  
121 GYLAPTMRQGEPPY PANYPYPLIG M7-1s.PRO  
121 GYLAPTMRQGEPPY PANYPYPLIG M8-2s.PRO

Decoration 'Decoration #1': Box residues that differ from X765551Prot.PRO.

b

Fig. 3a

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



```
1  GGCACCTTTTACCTTAACCCACACTTTTCAAGAAAGGTCTCC A AF065068Ko.seq
1  GGCACCTTTTACCTTAACCCACACTTTTCAAGAAAGGTCTCC A M6-1s.seq
41  TCATGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGGCTGGCAATGACAG AF065068Ko.seq
41  TCATGTTTGAAGCTCCTCAGTCAGCTGGGCTGGCAATGACAG M6-1s.seq
81  GCTGTTGTCTCCAAATGAGTTTGAAATCAAGCGCACTGTG AF065068Ko.seq
81  GCTGTTGTCTCCAAATGAGTTTGAAATCAAGCGCACTGTG M6-1s.seq
121 GATGGGGGAAGGATACAAATGTGGCCCAATGCAACATGACCA AF065068Ko.seq
121 GATGGGGGAAGGATACAAATGTGGCCCAATGCAACATGACCA M6-1s.seq
161 AAGACTGGGTTCTCTGGTTTCAAGATGCTTGCCCAACTACAAAT AF065068Ko.seq
161 AAGACTGGGTTCTCTGGTTTCAAGATGCTTGCCCAACTACAAAT M6-1s.seq
201 TGGCTACCAAGGGCTTTTACATCCCTGAGGGGATACAAAGGAT AF065068Ko.seq
201 TGGCTACCAAGGGCTTTTACATCCCTGAGGGGATACAAAGGAT M6-1s.seq
241 CGCATGTACTCCTTTTTCAGAAACTTCCAGGCTATGAGCA AF065068Ko.seq
241 CGCATGTACTCCTTTTTCAGAAACTTCCAGGCTATGAGCA M6-1s.seq
281 GGTAGGTGGTTGATGAGGTTAATTACACTGACTACAAAGG AF065068Ko.seq
281 GGTAGGTGGTTGATGAGGTTAATTACACTGACTACAAAGG M6-1s.seq
321 CGTCACCTTACCATATCAACACAAACAACTCTGGGCTTTGTA AF065068Ko.seq
321 CGTCACCTTACCATATCAACACAAACAACTCTGGGCTTTGTA M6-1s.seq
361 GGATACCTTGGCGGCTACTATGAGGACAAAGGGGAACCTTACG AF065068Ko.seq
361 GGATACCTTGGCGGCTACTATGAGGACAAAGGGGAACCTTACG M6-1s.seq
401 CAGCCCAATTATCCATAGCCGGCTCATCGGAA AF065068Ko.seq
401 CAGCCCAATTATCCATAGCCGGCTCATCGGAA M6-1s.seq
Decoration 'Decoration #1': Box residues that differ from AF065068Ko.seq.
```

a

```
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV AF065068Prot.PRO
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV M6-1s.PRO
41  DGEQYNVAQCENMTKDWFLVQMLANYNIGYQGFYIFEGYKD AF065068Prot.PRO
41  DGEQYNVAQCENMTKDWFLVQMLANYNIGYQGFYIFEGYKD M6-1s.PRO
81  RMYSPFRHFQPMRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNNSGFV AF065068Prot.PRO
81  RMYSPFRHFQPMRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNNSGFV M6-1s.PRO
121 GYLAPTMRQGEYPANYPYPLIG AF065068Prot.PRO
121 GYLAPTMRQGEYPANYPYPLIG M6-1s.PRO
Decoration 'Decoration #1': Box residues that differ from AF065068Prot.PRO.
```

b

Fig. 3b

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

```

1  GGCACCTTTTACCTTAACCCACACTTTCAAGAAAGGTCTCCA AF065065Ko.seq
1  GGCACCTTTTACCTTAACCCACACTTTCAAGAAAGGTCTCCA M3-3P-2.SEQ
1  GGCACCTTTTACCTTAACCCACACTTTCAAGAAAGGTCTCCA M5-1s.seq
1  GGCACCTTTTACCTTAACCCACACTTTCAAGAAAGGTCTCCA M9-2s.seq

41  TCATGTTTGACTCTCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCCAATGACAG AF065065Ko.seq
41  TCATGTTTGACTCTCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCCAATGACAG M3-3P-2.SEQ
41  TCATGTTTGACTCTCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCCAATGACAG M5-1s.seq
41  TCATGTTTGACTCTCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCCAATGACAG M9-2s.seq

81  GCTGTTTGAGCCCCAAATGAGTTTGAAATCAAGCGGCACTGTG AF065065Ko.seq
81  GCTGTTTGAGCCCCAAATGAGTTTGAAATCAAGCGGCACTGTG M3-3P-2.SEQ
81  GCTGTTTGAGCCCCAAATGAGTTTGAAATCAAGCGGCACTGTG M5-1s.seq
81  GCTGTTTGAGCCCCAAATGAGTTTGAAATCAAGCGGCACTGTG M9-2s.seq

121  GACGGGGGAAGGGTACAAATGTGGCCCAATGTAAACATGACCA AF065065Ko.seq
121  GACGGGGGAAGGGTACAAATGTGGCCCAATGTAAACATGACCA M3-3P-2.SEQ
121  GACGGGGGAAGGGTACAAATGTGGCCCAATGTAAACATGACCA M5-1s.seq
121  GACGGGGGAAGGGTACAAATGTGGCCCAATGTAAACATGACCA M9-2s.seq

161  AAGACTGGGTTCTCTGGTTTCAATGCTTGGCCAACCTACAAACAT AF065065Ko.seq
161  AAGACTGGGTTCTCTGGTTTCAATGCTTGGCCAACCTACAAACAT M3-3P-2.SEQ
161  AAGACTGGGTTCTCTGGTTTCAATGCTTGGCCAACCTACAAACAT M5-1s.seq
161  AAGACTGGGTTCTCTGGTTTCAATGCTTGGCCAACCTACAAACAT M9-2s.seq

201  TGGCTACCAAGGGGCTTTTACATCTCCCTGAGGGGATACAAAGGAT AF065065Ko.seq
201  TGGCTACCAAGGGGCTTTTACATCTCCCTGAGGGGATACAAAGGAT M3-3P-2.SEQ
201  TGGCTACCAAGGGGCTTTTACATCTCCCTGAGGGGATACAAAGGAT M5-1s.seq
201  TGGCTACCAAGGGGCTTTTACATCTCCCTGAGGGGATACAAAGGAT M9-2s.seq

241  CGCATGTACTCTCTTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCA AF065065Ko.seq
241  CGCATGTACTCTCTTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCA M3-3P-2.SEQ
241  CGCATGTACTCTCTTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCA M5-1s.seq
241  CGCATGTACTCTCTTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCA M9-2s.seq

281  GGCAGGTTGGTGTGATGAGGTTAATTACACTGACTACAAAGC AF065065Ko.seq
281  GGCAGGTTGGTGTGATGAGGTTAATTACACTGACTACAAAGC M3-3P-2.SEQ
281  GGCAGGTTGGTGTGATGAGGTTAATTACACTGACTACAAAGC M5-1s.seq
281  GGCAGGTTGGTGTGATGAGGTTAATTACACTGACTACAAAGC M9-2s.seq

321  CGTCACTTTACCATATCCAAACACAAACACTCTGGCTTTGTAA AF065065Ko.seq
321  CGTCACTTTACCATATCCAAACACAAACACTCTGGCTTTGTAA M3-3P-2.SEQ
321  CGTCACTTTACCATATCCAAACACAAACACTCTGGCTTTGTAA M5-1s.seq
321  CGTCACTTTACCATATCCAAACACAAACACTCTGGCTTTGTAA M9-2s.seq

361  GGGTATCTTGCACCTACTATGAGACAAAGGGGAACCTTACCA AF065065Ko.seq
361  GGGTATCTTGCACCTACTATGAGACAAAGGGGAACCTTACCA M3-3P-2.SEQ
361  GGGTATCTTGCACCTACTATGAGACAAAGGGGAACCTTACCA M5-1s.seq
361  GGGTATCTTGCACCTACTATGAGACAAAGGGGAACCTTACCA M9-2s.seq

401  CAGCCAAATTTATCCATACCCGCTCATCGGAA AF065065Ko.seq
401  CAGCCAAATTTATCCATACCCGCTCATCGGAA M3-3P-2.SEQ
401  CAGCCAAATTTATCCATACCCGCTCATCGGAA M5-1s.seq
401  CAGCCAAATTTATCCATACCCGCTCATCGGAA M9-2s.seq

```

Decoration 'Decoration #1': Box residues that differ from AF065065Ko.seq.

a

```

1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV AF065065.pro
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV M3-3p.pro
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV M5-1s.PRO
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTV M9-2s.PRO

41  DGE GYNVAQC NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGIFYIPEGYKD AF065065.pro
41  DGE GYNVAQC NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGIFYIPEGYKD M3-3p.pro
41  DGE GYNVAQC NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGIFYIPEGYKD M5-1s.PRO
41  DGE GYNVAQC NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGIFYIPEGYKD M9-2s.PRO

81  RMY SFFRNFPQMSRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNNSGFV AF065065.pro
81  RMY SFFRNFPQMSRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNNSGFV M3-3p.pro
81  RMY SFFRNFPQMSRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNNSGFV M5-1s.PRO
81  RMY SFFRNFPQMSRQVVDEVNYTDYKAVTLPYQHNNSGFV M9-2s.PRO

121  GYLAPTMRQGEPYPANYPYPLIG AF065065.pro
121  GYLAPTMRQGEPYPANYPYPLIG M3-3p.pro
121  GYLAPTMRQGEPYPANYPYPLIG M5-1s.PRO
121  GYLAPTMRQGEPYPANYPYPLIG M9-2s.PRO

```

Decoration 'Decoration #1': Box residues that differ from AF065065.pro.

b

Fig. 3c

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

1 GGCACCTTTTACCTTAACCACACTTTTCAAGAAGGTCCTCCATCATGTTTGA M2-3s.seq  
1 GGCACCTTTTACCTTAACCACACTTTTCAAGAAGGTCCTCCATCATGTTTGA M5-1s.seq  
1 GGCACCTTTTACCTTAACCACACTTTTCAAGAAGGTCCTCCATCATGTTTGA M6-1s.seq  
1 GGCACCTTTTACCTTAACCACACTTTTCAAGAAGGTCCTCCATCATGTTTGA M7-1s.seq  
1 GGCACCTTTTACCTTAACCACACTTTTCAAGAAGGTCCTCCATCATGTTTGA M8-2s.seq  
1 GGCACCTTTTACCTTAACCACACTTTTCAAGAAGGTCCTCCATCATGTTTGA M9-2s.seq

51 CTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAGGCTGTTGAGCCCAAATGAGT M2-3s.seq  
51 CTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAGGCTGTTGAGCCCAAATGAGT M5-1s.seq  
51 CTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAGGCTGTTGAGCCCAAATGAGT M6-1s.seq  
51 CTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAGGCTGTTGAGCCCAAATGAGT M7-1s.seq  
51 CTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAGGCTGTTGAGCCCAAATGAGT M8-2s.seq  
51 CTCCTCAGTCAGCTGGCCCTGGCAATGACAGGCTGTTGAGCCCAAATGAGT M9-2s.seq

101 TTGAAATCAAGCGCACTGTGGACGGGGGAAGGCTACAAATGTGGCCCAAATG M2-3s.seq  
101 TTGAAATCAAGCGCACTGTGGACGGGGGAAGGCTACAAATGTGGCCCAAATG M5-1s.seq  
101 TTGAAATCAAGCGCACTGTGGACGGGGGAAGGATACAAATGTGGCCCAAATG M6-1s.seq  
101 TTGAAATCAAGCGCACTGTGGACGGGGGAAGGATACAAATGTGGCCCAAATG M7-1s.seq  
101 TTGAAATCAAGCGCACTGTGGACGGGGGAAGGATACAAATGTGGCCCAAATG M8-2s.seq  
101 TTGAAATCAAGCGCACTGTGGACGGGGGAAGGATACAAATGTGGCCCAAATG M9-2s.seq

151 AACATGACCAAAGACTGGTTTCCTGGTTTCAGATGCTTGCCAACTACAAACAT M2-3s.seq  
151 AACATGACCAAAGACTGGTTTCCTGGTTTCAGATGCTTGCCAACTACAAACAT M5-1s.seq  
151 AACATGACCAAAGACTGGTTTCCTGGTTTCAGATGCTTGCCAACTACAAACAT M6-1s.seq  
151 AACATGACCAAAGACTGGTTTCCTGGTTTCAGATGCTTGCCAACTACAAACAT M7-1s.seq  
151 AACATGACCAAAGACTGGTTTCCTGGTTTCAGATGCTTGCCAACTACAAACAT M8-2s.seq  
151 AACATGACCAAAGACTGGTTTCCTGGTTTCAGATGCTTGCCAACTACAAACAT M9-2s.seq

201 TGGCTACCAGGGCTTTTACATCCCTGAGGGGATACAAGGATCGCATGTACT M2-3s.seq  
201 TGGCTACCAGGGCTTTTACATCCCTGAGGGGATACAAGGATCGCATGTACT M5-1s.seq  
201 TGGCTACCAGGGCTTTTACATCCCTGAGGGGATACAAGGATCGCATGTACT M6-1s.seq  
201 TGGCTACCAGGGCTTTTACATCCCTGAGGGGATACAAGGATCGCATGTACT M7-1s.seq  
201 TGGCTACCAGGGCTTTTACATCCCTGAGGGGATACAAGGATCGCATGTACT M8-2s.seq  
201 TGGCTACCAGGGCTTTTACATCCCTGAGGGGATACAAGGATCGCATGTACT M9-2s.seq

251 CTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCAGGCAAGGTGGTTTATGAGGTT M2-3s.seq  
251 CTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCAGGCAAGGTGGTTTATGAGGTT M5-1s.seq  
251 CTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCAGGCAAGGTGGTTTATGAGGTT M6-1s.seq  
251 CTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCAGGCAAGGTGGTTTATGAGGTT M7-1s.seq  
251 CTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCAGGCAAGGTGGTTTATGAGGTT M8-2s.seq  
251 CTTTTCAGAAACTTCCAGCCCTATGAGCAGGCAAGGTGGTTTATGAGGTT M9-2s.seq

301 AATTACACTGACTACAAAGCCGTCACCTTACCATACCAACACAAACAACTC M2-3s.seq  
301 AATTACACTGACTACAAAGCCGTCACCTTACCATACCAACACAAACAACTC M5-1s.seq  
301 AATTACACTGACTACAAAGCCGTCACCTTACCATACCAACACAAACAACTC M6-1s.seq  
301 AATTACACTGACTACAAAGCCGTCACCTTACCATACCAACACAAACAACTC M7-1s.seq  
301 AATTACACTGACTACAAAGCCGTCACCTTACCATACCAACACAAACAACTC M8-2s.seq  
301 AATTACACTGACTACAAAGCCGTCACCTTACCATACCAACACAAACAACTC M9-2s.seq

351 TGGCTTTGTAGGGTAATTCTTGACCTACTATGAGACAAGGGGGAACCTTACC M2-3s.seq  
351 TGGCTTTGTAGGGTAATTCTTGACCTACTATGAGACAAGGGGGAACCTTACC M5-1s.seq  
351 TGGCTTTGTAGGGTAATTCTTGACCTACTATGAGACAAGGGGGAACCTTACC M6-1s.seq  
351 TGGCTTTGTAGGGTAATTCTTGACCTACTATGAGACAAGGGGGAACCTTACC M7-1s.seq  
351 TGGCTTTGTAGGGTAATTCTTGACCTACTATGAGACAAGGGGGAACCTTACC M8-2s.seq  
351 TGGCTTTGTAGGGTAATTCTTGACCTACTATGAGACAAGGGGGAACCTTACC M9-2s.seq

401 CAGCCAATTATCCATACCCGCTCATCGGAA M2-3s.seq  
401 CAGCCAATTATCCATACCCGCTCATCGGAA M5-1s.seq  
401 CAGCCAATTATCCATACCCGCTCATCGGAA M6-1s.seq  
401 CAGCCAATTATCCATACCCGCTCATCGGAA M7-1s.seq  
401 CAGCCAATTATCCATACCCGCTCATCGGAA M8-2s.seq  
401 CAGCCAATTATCCATACCCGCTCATCGGAA M9-2s.seq

Decoration 'Decoration #1': Box residues that differ from the Consensus.

Fig. 4a

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

```

1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTVDGEGYNVAQC M2-3s.PRC
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTVDGEGYNVAQC M5-1s.PRC
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTVDGEGYNVAQC M6-1s.PRC
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTVDGEGYNVAQC M7-1s.PRC
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTVDGEGYNVAQC M8-2s.PRC
1  GTFYLNHTFKKVSIMFDSSVSWPGNDRLLSPNEFEIKRTVDGEGYNVAQC M9-2s.PRC

51 NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGFFYIPEGYKDRMYSFFRNHFQPM SRQVVDEV M2-3s.PRC
51 NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGFFYIPEGYKDRMYSFFRNHFQPM SRQVVDEV M5-1s.PRC
51 NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGFFYIPEGYKDRMYSFFRNHFQPM SRQVVDEV M6-1s.PRC
51 NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGFFYIPEGYKDRMYSFFRNHFQPM SRQVVDEV M7-1s.PRC
51 NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGFFYIPEGYKDRMYSFFRNHFQPM SRQVVDEV M8-2s.PRC
51 NMTKDWFLVQMLANYNIGYQGFFYIPEGYKDRMYSFFRNHFQPM SRQVVDEV M9-2s.PRC

101 NYTDYKAVTLTPYQHNNSSGFVGYLAPTMROGEPYPANYPTFLIG M2-3s.PRC
101 NYTDYKAVTLTPYQHNNSSGFVGYLAPTMROGEPYPANYPTFLIG M5-1s.PRC
101 NYTDYKAVTLTPYQHNNSSGFVGYLAPTMROGEPYPANYPTFLIG M6-1s.PRC
101 NYTDYKAVTLTPYQHNNSSGFVGYLAPTMROGEPYPANYPTFLIG M7-1s.PRC
101 NYTDYKAVTLTPYQHNNSSGFVGYLAPTMROGEPYPANYPTFLIG M8-2s.PRC
101 NYTDYKAVTLTPYQHNNSSGFVGYLAPTMROGEPYPANYPTFLIG M9-2s.PRC

```

Decorations: \* (decoration #1): Box residues that differ from the Consensus.

Fig. 4b

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



1 ctcctatatt aatatccdti atagaatggaa tggtagccaaac atgtaaatga ggtaatttaa  
 61 aaaaatgagc gctgtgtgtt gattggctgt ggggtgaatg actaocatgg gcggggcggc  
 121 cgtgggaaaa tgacgtgact taigtgggag gaggtaatgt gcaagttatt gcggtaaatg  
 181 tgacgtaaaa ggaggtgtgg tttagaacgc gaagttagaca gtattccacac gcttactggt  
 241 aggaatagag gtatgttttg gcgggtgcaa gtaaaatttc tccatttttc gcggaact  
 301 gaatgaggaa gtaaaatttc gggcatttc gcggtaatga cgggtggag tatttgccga  
 361 ggcccgagta gactttgacc gttagctgg aggtttcgar taccggttt tccactgaa  
 421 ttcccgcta cgggtgcaaa gtctgtgtt tttagctagg tgcagctga tcgctagggt  
 481 atataaccct gacgagttcc gtcaagggc cactcttgag tgccagcgag aagagtttc  
 541 tcctccgagc cgcaagtcag ttctgcgtt tgaatgag acacctgcgc ttctgccac  
 601 aggagattat ctccagtga accgggatcg aatactgga gtttgtgta aataccctaa  
 661 tgggagacga cccggaaccg ccagtgcagc cttttgatcc acctacgctg cagatctgt

ADE1Bq12S  
 ADE1Hi3AS  
 TATA Box  
 Transkriptionsstart

Fig. 5

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

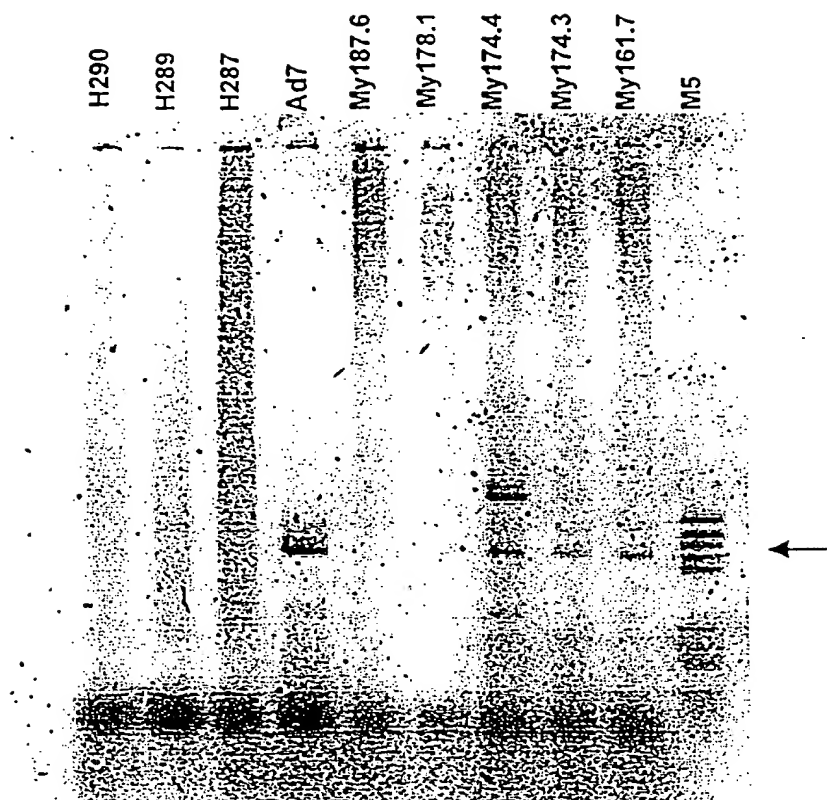


Fig. 6

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## SEQUENZPROTOKOLL

<110> Bullerdiek, Jörn

<120> Mittel zur Prävention und/oder Behandlung einer  
Gewebeveränderung mesenchymalen Ursprungs

<130> B3960PCT

<140>

<141>

<160> 47

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 19

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Primer HsgA1

<400> 1

aaggtgtcaa tyatgtttg

19

<210> 2

<211> 14

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Primer HsgA2

<400> 2

acggttactt kttt

14

<210> 3

<211> 18

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Primer HsgB1

<400> 3

tctattccct acctggat

18

<210> 4

<211> 17

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Primer HsgB2

<400> 4

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

actcttaacg gcagtag

17

<210> 5

<211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Primer ADE1Bg12S

<400> 5

gaagatcttt atagatggaa tggcgccaac at

32

<210> 6

<211> 31

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Primer ADE1Hi3AS

<400> 6

cccaagctta aaactcttct cgctggcagt c

31

<210> 7

<211> 17

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Primer HsgC1

<400> 7

acctttgact cttctgt

17

<210> 8

<211> 17

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Primer HsgC2

<400> 8

tccttgatt tagtata

17

<210> 9

<211> 18

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Primer HsgD1

<400> 9

ccatcatgtt cgactcct

18

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



<210> 10  
<211> 17  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer HsgD2

<400> 10  
aggtagccgg tgaagcc 17

<210> 11  
<211> 18  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer HsgE1

<400> 11  
gactcttccg tcagctgg 18

<210> 12  
<211> 17  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer HsgE2

<400> 12  
gctggtaacg gcgctct 17

<210> 13  
<211> 17  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer HsgF1

<400> 13  
atttctattc cttcgcg 17

<210> 14  
<211> 17  
<212> DNA  
<213> Künstliche Sequenz

<220>  
<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Primer HsgF2

<400> 14  
tcaggcttgg tacggcc 17

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

<210> 15  
<211> 430  
<212> DNA  
<213> Adenovirus: Isolat X765551Ko

<400> 15  
ggcacctttt accttaacca cacttttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctccctcagtc 60  
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120  
gacggggaag ggtacaatgt ggccaatgt aacatgacca aagactgggt cctgggttcag 180  
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240  
cgcatgtact cctttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgaggtt 300  
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360  
gggtatcttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccatacccg 420  
ctcatcgga 430

<210> 16  
<211> 430  
<212> DNA  
<213> Adenovirus: Isolat M2-3s

<400> 16  
ggcacctttt accttaacca cacttttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctccctcagtc 60  
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120  
gacggggaag ggtacaatgt ggccaatgt aacatgacca aagactgggt cctgggttcag 180  
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240  
cgcatgtact cctttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgaggtt 300  
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360  
gggtatcttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccatacccg 420  
ctcatcgga 430

<210> 17  
<211> 430  
<212> DNA  
<213> Adenovirus: Isolat M7-1s

<400> 17  
ggcaccttct accttaacca cacttttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctccctcagtc 60  
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120  
gacggggaag gatacaacgt ggcacaatgc aacatgacca aagactgggt cctagttcag 180  
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240  
cgcatgtact cttttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgaggtt 300  
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360  
gggtaccttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccatacccg 420  
ctcatcgga

<210> 18  
<211> 430  
<212> DNA  
<213> Adenovirus: Isolat M8-2s

<400> 18  
ggcaccttct accttaacca cacttttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctccctcagtc 60  
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120  
gacggggaag gatacaacgt ggcacaatgc aacatgacca aagactgggt cctagttcag 180  
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240  
cgcatgtact cttttttcag aaacttccag cctacgagca ggcaggtggg tgatgaggtt 300  
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360  
gggtaccttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cggccaatta tccatacccg 420

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

ctcatcgga

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 143

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat X765551Ko

&lt;400&gt; 19

Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys	Val	Ser	Ile	Met	Phe
1				5					10					15	

Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg	Leu	Leu	Ser	Pro	Asn
			20					25					30		

Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Asp	Gly	Glu	Gly	Tyr	Asn	Val	Ala
		35					40					45			

Gln	Cys	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Val	Gln	Met	Leu	Ala	Asn
	50					55					60				

Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Ile	Pro	Glu	Gly	Tyr	Lys	Asp
65					70					75					80

Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg	Gln	Val
				85					90					95	

Val	Asp	Glu	Val	Asn	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Lys	Ala	Val	Thr	Leu	Pro	Tyr
			100					105					110		

Lys	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Leu	Ala	Pro	Thr	Met	Arg
		115					120					125			

Gln	Gly	Glu	Pro	Tyr	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile	Gly	
	130					135					140				

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 143

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M2-3s

&lt;400&gt; 20

Gly	Thr	Phe	Tyr	Leu	Asn	His	Thr	Phe	Lys	Lys	Val	Ser	Ile	Met	Phe
1				5					10					15	

Asp	Ser	Ser	Val	Ser	Trp	Pro	Gly	Asn	Asp	Arg	Leu	Leu	Ser	Pro	Asn
			20					25					30		

Glu	Phe	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Asp	Gly	Glu	Gly	Tyr	Asn	Val	Ala
		35					40					45			

Gln	Cys	Asn	Met	Thr	Lys	Asp	Trp	Phe	Leu	Val	Gln	Met	Leu	Ala	Asn
	50					55					60				

Tyr	Asn	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Phe	Tyr	Ile	Pro	Glu	Gly	Tyr	Lys	Asp
65					70					75					80

Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg	Gln	Val
				85					90					95	

Val	Asp	Glu	Val	Asn	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Lys	Ala	Val	Thr	Leu	Pro	Tyr
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

			100					105					110				
Lys	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Leu	Ala	Pro	Thr	Met	Arg		
		115					120					125					
Gln	Gly	Glu	Pro	Tyr	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile	Gly			
	130					135					140						

```
<210> 21
<211> 143
<212> PRT
<213> Adenovirus: Isolat M7-1s
```

```

<400> 21
Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe
  1          5          10          15
Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn
          20          25          30
Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala
  35          40          45
Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn
  50          55          60
Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp
  65          70          75          80
Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val
          85          90          95
Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr
          100          105          110
Lys His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg
          115          120          125
Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly
  130          135          140

```

```
<210> 22
<211> 143
<212> PRT
<213> Adenovirus: Isolat M8-2s
```

<400> 22  
Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe  
1 5 10 15  
Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn  
20 25 30  
Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala  
35 40 45  
Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn  
50 55 60

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp  
65 70 75 80

Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Thr Ser Arg Gln Val  
85 90 95

Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr  
100 105 110

Lys His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg  
115 120 125

Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly  
130 135 140

<210> 23

<211> 430

<212> DNA

<213> Adenovirus: Isolat AF065068Ko

<400> 23

```
ggcacttttt accttaacca cacttttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctcctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgtct ccaaagtagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gatggggaag gatacaatgt ggcccaatgc aacatgacca aagactgggt cctggttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cctttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgaggtt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataatcaac acaacaactc tggctttgta 360
ggataccttg cgcctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccataacccg 420
ctcatcgga 430
```

<210> 24

<211> 430

<212> DNA

<213> Adenovirus: Isolat M6-1s

<400> 24

```
ggcacctttt accttaacca cacttttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctcctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgtct ccaaagtagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gatggggaag gatacaatgt ggcccaatgc aacatgacca aagactgggt cctggttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cctttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgaggtt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataatcaac acaacaactc tggctttgta 360
ggataccttg cgcctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccataacccg 420
ctcatcgga 430
```

<210> 25

<211> 143

<212> PRT

<213> Adenovirus: Isolat AF065068Ko

<400> 25

Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe  
1 5 10 15

Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn  
20 25 30

Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

35                      40                      45  
 Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn  
     50                      55                      60  
 Tyr Asn Ile Gly Tyr Lys Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp  
     65                      70                      75                      80  
 Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val  
                     85                      90                      95  
 Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr  
                     100                      105                      110  
 Lys His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg  
                     115                      120                      125  
 Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly  
     130                      135                      140

<210> 26  
 <211> 143  
 <212> PRT  
 <213> Adenovirus: Isolat M6-1s

<400> 26  
 Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe  
     1                      5                      10                      15  
 Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn  
                     20                      25                      30  
 Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala  
     35                      40                      45  
 Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn  
     50                      55                      60  
 Tyr Asn Ile Gly Tyr Lys Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp  
     65                      70                      75                      80  
 Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val  
                     85                      90                      95  
 Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr  
                     100                      105                      110  
 Lys His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg  
                     115                      120                      125  
 Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly  
     130                      135                      140

<210> 27  
 <211> 430  
 <212> DNA  
 <213> Adenovirus: Isolat AF065065Ko

<400> 27  
 ggcacctttt accttaacca cactttcaag aaggctctcca tcatgtttga ctcctcagtc 60

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

```

agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtgagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gacggggaag ggtacaatgt ggcccaatgt aacatgacca aagactgggt cctgggttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cttttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgagggt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
gggtatcttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccataaccg 420
ctcatcgga 430

```

<210> 28  
 <211> 430  
 <212> DNA  
 <213> Adenovirus: Isolat M3.3P-2

```

<400> 28
ggcacctttt accttaacca cactttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtgagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gacggggaag ggtacaatgt ggccanngt aacatgacca aagactgggt cctgggttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tncctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cttttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggc tgatgaggnt 300
aattacactg actacaaagc cggcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
gggtatcttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccataaccg 420
ctcatcgga 430

```

<210> 29  
 <211> 430  
 <212> DNA  
 <213> Adenovirus: Isolat M5-1s

```

<400> 29
ggcacctttt accttaacca cactttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtgagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gacggggaag ggtacaatgt ggcccaatgt aacatgacca aagactgggt cctgggttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cttttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgagggt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
gggtatcttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccataaccg 420
ctcatcgga 430

```

<210> 30  
 <211> 430  
 <212> DNA  
 <213> Adenovirus: Isolat M9-2s

```

<400> 30
ggcaccttct accttaacca cactttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtgagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gacggggaag gatacaacgt ggcacaatgc aacatgacca aagactgggt cctagttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cttttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgagggt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
gggtaccttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccataaccg 420
ctcatcgga 430

```

<210> 31  
 <211> 143  
 <212> PRT

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

<213> Adenovirus: Isolat AF065065Ko

<400> 31

```

Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe
 1           5           10           15
Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn
          20           25           30
Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala
          35           40           45
Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn
          50           55           60
Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp
          65           70           75           80
Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val
          85           90           95
Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr
          100          105          110
Gln His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg
          115          120          125
Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly
          130          135          140

```

<210> 32

<211> 143

<212> PRT

<213> Adenovirus: Isolat M3-3p

<400> 32

```

Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe
 1           5           10           15
Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn
          20           25           30
Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala
          35           40           45
Xaa Xaa Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn
          50           55           60
Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Xaa Pro Glu Gly Tyr Lys Asp
          65           70           75           80
Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val
          85           90           95
Ala Asp Glu Xaa Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Gly Thr Leu Pro Tyr
          100          105          110
Gln His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg
          115          120          125
Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly

```

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



130

135

140

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 143

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M5-1s

&lt;400&gt; 33

Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe  
 1 5 10 15

Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn  
 20 25 30

Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala  
 35 40 45

Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn  
 50 55 60

Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp  
 65 70 75 80

Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val  
 85 90 95

Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr  
 100 105 110

Gln His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg  
 115 120 125

Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly  
 130 135 140

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 143

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M9-2s

&lt;400&gt; 34

Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe  
 1 5 10 15

Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn  
 20 25 30

Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala  
 35 40 45

Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn  
 50 55 60

Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp  
 65 70 75 80

Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val  
 85 90 95

Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

100

105

110

Gln His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg  
 115 120 125

Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly  
 130 135 140

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 430

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M2-3s

&lt;400&gt; 35

```

ggcacctttt accttaacca cactttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gacggggaag ggtacaatgt ggcccaatgt aacatgacca aagactggtt cctggttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cctttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggt tgatgaggtt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
gggtatcttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccatacccg 420
ctcatcgga 430

```

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 430

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M5-1s

&lt;400&gt; 36

```

ggcacctttt accttaacca cactttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gacggggaag ggtacaatgt ggcccaatgt aacatgacca aagactggtt cctggttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cctttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggt tgatgaggtt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
gggtatcttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccatacccg 420
ctcatcgga

```

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 430

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M6-1s

&lt;400&gt; 37

```

ggcacctttt accttaacca cactttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagagt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gatggggaag gatacaatgt ggcccaatgc aacatgacca aagactggtt cctggttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cctttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggt tgatgaggtt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacctta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
ggataccttg cgcctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccatacccg 420
ctcatcgga

```

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 430

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M7-1s

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

&lt;400&gt; 38

```

ggcaccttct accttaacca cactttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctccctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtgtt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gacggggaag gatacaacgt ggcacaatgc aacatgacca aagactgggt cctagttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cttttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgaggtt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacotta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
gggtaccttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccatacccg 420
ctcatcgga

```

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 430

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M8-2s

&lt;400&gt; 39

```

ggcaccttct accttaacca cactttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctccctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtgtt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gacggggaag gatacaacgt ggcacaatgc aacatgacca aagactgggt cctagttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cttttttcag aaacttccag cctacgagca ggcaggtggg tgatgaggtt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacotta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
gggtaccttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cggccaatta tccatacccg 420
ctcatcgga

```

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 430

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M9-2s

&lt;400&gt; 40

```

ggcaccttct accttaacca cactttcaag aaggtctcca tcatgtttga ctccctcagtc 60
agctggcctg gcaatgacag gctgttgagc ccaaagtgtt ttgaaatcaa gcgcactgtg 120
gacggggaag gatacaacgt ggcacaatgc aacatgacca aagactgggt cctagttcag 180
atgcttgcca actacaacat tggctaccag ggcttttaca tccctgaggg atacaaggat 240
cgcatgtact cttttttcag aaacttccag cctatgagca ggcaggtggg tgatgaggtt 300
aattacactg actacaaagc cgtcacotta ccataccaac acaacaactc tggctttgta 360
gggtaccttg cacctactat gagacaaggg gaaccttacc cagccaatta tccatacccg 420
ctcatcgga

```

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 143

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Adenovirus: Isolat M2-3s

&lt;400&gt; 41

```

Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe
  1             5             10             15

Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn
      20             25             30

Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala
      35             40             45

Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn
      50             55             60

Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp
      65             70             75             80

```

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Arg	Met	Tyr	Ser	Phe	Phe	Arg	Asn	Phe	Gln	Pro	Met	Ser	Arg	Gln	Val
				85					90					95	
Val	Asp	Glu	Val	Asn	Tyr	Thr	Asp	Tyr	Lys	Ala	Val	Thr	Leu	Pro	Tyr
			100					105					110		
Lys	His	Asn	Asn	Ser	Gly	Phe	Val	Gly	Tyr	Leu	Ala	Pro	Thr	Met	Arg
		115					120					125			
Gln	Gly	Glu	Pro	Tyr	Pro	Ala	Asn	Tyr	Pro	Tyr	Pro	Leu	Ile	Gly	
	130					135					140				

```
<210> 42
<211> 143
<212> PRT
<213> Adenovirus: Isolat M5-1s
```

```

<400> 42
Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe
  1          5          10          15
Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn
          20          25          30
Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala
          35          40          45
Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn
          50          55          60
Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp
          65          70          75          80
Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val
          85          90          95
Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr
          100          105          110
Lys His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg
          115          120          125
Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly
          130          135          140

```

```
<210> 43
<211> 143
<212> PRT
<213> Adenovirus: Isolat M6-1s
```

<400> 43  
Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe  
1 5 10 15  
Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn  
20 25 30  
Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala  
35 40 45

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn  
 50 55 60

Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp  
 65 70 75 80

Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val  
 85 90 95

Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr  
 100 105 110

Lys His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg  
 115 120 125

Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly  
 130 135 140

<210> 44  
 <211> 143  
 <212> PRT  
 <213> Adenovirus: Isolat M7-1s

<400> 44  
 Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe  
 1 5 10 15

Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn  
 20 25 30

Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala  
 35 40 45

Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn  
 50 55 60

Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp  
 65 70 75 80

Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val  
 85 90 95

Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr  
 100 105 110

Lys His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg  
 115 120 125

Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly  
 130 135 140

<210> 45  
 <211> 143  
 <212> PRT  
 <213> Adenovirus: Isolat M8-2s

<400> 45  
 Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe  
 1 5 10 15

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn  
20 25 30

Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala  
35 40 45

Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn  
50 55 60

Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp  
65 70 75 80

Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Thr Ser Arg Gln Val  
85 90 95

Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr  
100 105 110

Lys His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg  
115 120 125

Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly  
130 135 140

<210> 46

<211> 143

<212> PRT

<213> Adenovirus: Isolat M9-2s

<400> 46

Gly Thr Phe Tyr Leu Asn His Thr Phe Lys Lys Val Ser Ile Met Phe  
1 5 10 15

Asp Ser Ser Val Ser Trp Pro Gly Asn Asp Arg Leu Leu Ser Pro Asn  
20 25 30

Glu Phe Glu Ile Lys Arg Thr Val Asp Gly Glu Gly Tyr Asn Val Ala  
35 40 45

Gln Cys Asn Met Thr Lys Asp Trp Phe Leu Val Gln Met Leu Ala Asn  
50 55 60

Tyr Asn Ile Gly Tyr Gln Gly Phe Tyr Ile Pro Glu Gly Tyr Lys Asp  
65 70 75 80

Arg Met Tyr Ser Phe Phe Arg Asn Phe Gln Pro Met Ser Arg Gln Val  
85 90 95

Val Asp Glu Val Asn Tyr Thr Asp Tyr Lys Ala Val Thr Leu Pro Tyr  
100 105 110

Lys His Asn Asn Ser Gly Phe Val Gly Tyr Leu Ala Pro Thr Met Arg  
115 120 125

Gln Gly Glu Pro Tyr Pro Ala Asn Tyr Pro Tyr Pro Leu Ile Gly  
130 135 140

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

<210> 47  
<211> 720  
<212> DNA  
<213> Adenovirus

<223> Promotorsequenz des adenoviralen Proteins ElA  
(wie dargestellt in Fig. 5)

<400> 47  
ctctctatat aatatacctt atagatggaa tgggtgccaac atgtaaataa ggtaatttaa 60  
aaaagtgcgc gctgtgtggt gattggctgt ggggtgaatg actaacatgg gcggggcggc 120  
cgtgggaaaa tgacgtgact tatgtgggag gagttatgtt gcaagttatt gcggtaaatg 180  
tgacgtaaaa ggaggtgtgg tttgaacacg gaagtagaca gttttccac gcttactggt 240  
aggatatgag gtagtttttg gcggatgcaa gtgaaaattc tccattttcg cgcgaaaact 300  
gaatgaggaa gtgaatttct gagtcatttc gcggttatga cagggtggag tatttgccga 360  
gggccgagta gactttgacc gtttacgtgg aggtttcgat taccgtgtt ttcacctaaa 420  
tttccgcgta cgggtgtcaaa gtccgtgtgt tttacgtagg tgtcagctga tcgctagggt 480  
atntaaacct gacgagttcc gtcaagaggc cactcctgag tgccagcgag aagagttttc 540  
tcctccgcgc cgcaagtcag ttctycgctt tgaaaatgag acacctgcgc ttctgccac 600  
aggagattat ctccagtga accgggatcg aaatactgga gtttgtggta aataccctaa 660  
tgggagacga cccggaaccg ccagtgcagc cttttgatcc acctacgctg cacgatctgt 720

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**